

Rechnergestützte Auswertung hochaufgelöster Massenspektren

Fragmentierung von 1,2,3-Trimethoxybenzol-Verbindungen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

vorgelegt der Abteilung für Chemie
der Ruhr-Universität Bochum

von
Paul Heinz Sollböhmer
aus Bochum

Bochum 1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Rechnergestützte Auswertung hochaufgelöster Massenspektren

Fragmentierung von 1,2,3-Trimethoxybenzol-Verbindungen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

vorgelegt der Abteilung für Chemie
der Ruhr-Universität Bochum

von
Paul Heinz Sollbömer
aus Bochum

Bochum 1984

eingereicht am: 12.3.1984

mündliche Prüfung am: 13.4.1984

Vorsitzender: Prof. Dr. W. Kutzelnigg

Referent: Prof. Dr. G. Bergmann

Korreferent: Prof. Dr. G. Snatzke

Diese Arbeit wurde am Lehrstuhl für Analytische Chemie
der Ruhr-Universität Bochum in der Zeit von Juli 1980
bis März 1984 durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. G. Bergmann danke ich für die Bereitstellung
eines Arbeitsplatzes und für viele anregende Gespräche.

Bei Frau Dr. E. Baranowska und Herrn Dr. D. Müller bedanke
ich mich für die ständige Diskussionsbereitschaft.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Zielsetzung der Arbeit	4
3. Rechnergestützte Auswertung hochaufgelöster Massenspektren	6
3.1 Literaturübersicht	6
3.2 Ermittlung der Elemente aus dem Massenspektrum	12
3.2.1 Prinzip des Verfahrens	14
3.2.2 Programmtechnische Verwirklichung	16
3.2.3 Ergebnisse in der Anwendung und Diskussion	33
3.3 Zuordnung der Massen des Spektrums	39
3.3.1 Algorithmus zur Ermittlung der elementaren Zusammensetzung	40
3.3.2 Eliminierung chemisch nicht sinnvoller Formeln	46
3.3.3 Isotopenpatternvergleich	49
3.3.4 Identifizierung des Molekülions	56
4. Fragmentierung von 1,2,3-Trimethoxybenzol-Verbindungen	62
4.1 Literaturübersicht	64
4.2 1,2,3-Trimethoxybenzol	75
4.3 Substituierte Trimethoxybenzole	85
4.4 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol	88
4.5 3,4,5-Trimethoxydiphenylmethan	99
5. Zusammenfassung	106

6.	Literaturverzeichnis	109
7.	Anhang	116
A	Programmerstellung	116
B	Namen und Strukturen der Verbindungen I - VII	117
C	Darstellung der Trimethoxybenzol- Verbindungen	119
D	Meßbedingungen	121
D1	Niederaufgelöste Massenspektren	121
D2	Hochaufgelöste Massenspektren	121
D3	Metastabile Übergänge	122
D4	KER-Messungen	123

Abkürzungen und Symbole

B	Magnetfeldstärke
CA	Collisional Activation (Stoßaktivierung)
E/E_0	Verhältnis von aktueller Spannung des elektrischen Sektorfeldes zur Ausgangsspannung
KER	Kinetic Energy Release (freigesetzte kinetische Energie)
M+	Molekülion
m *	metastabiles Ion, oder scheinbare Masse eines metastabilen Ions
m/z	Verhältnis der Masse zur Ladung eines Ions
mmu	milli mass units (Millimasseneinheiten)
mu	mass units (Masseneinheiten)
rel. Int.	relative Intensität (bezogen auf das intensivste Ion des Spektrums)
T_{50}	freigesetzte kinetische Energie (aus Peakbreitenmessungen metastabiler Ionen)
T_m	Massentoleranz
	metastabiler Übergang
	Umlagerungsreaktion

Mit römischen Ziffern gekennzeichnete Verbindungen sind im Anhang B mit Namen und Struktur aufgeführt.

1. Einleitung

Die Massenspektrometrie ist seit etwa 25 Jahren zu einer etablierten Methode der Strukturanalyse organischer Verbindungen geworden. Die Bedeutung, die sie als Hilfsmittel des analytischen Chemikers erlangt hat, ist insbesondere darauf zurückzuführen, daß für die unterschiedlichsten Problemstellungen spezielle Meßtechniken entwickelt worden sind.

So wurden für die Analyse komplexer Substanzgemische Kopplungen des Massenspektrometers mit Gaschromatographen und Hochdruckflüssigkeitschromatographen geschaffen. Durch neue Ionisierungsmethoden, wie chemische Ionisierung (CI), Feld-desorption (FD) oder Fast atom bombardment (FAB), wurden Substanzklassen für die Massenspektrometrie erschlossen, die mit der klassischen Elektronenstoßionisierung nicht zugänglich waren. Scanverfahren für die Registrierung metastabiler Ionen geben Hinweise auf die Zerfallswege einer Verbindung. Durch zusätzliche Anregung der Ionen in feldfreien Räumen des Massenspektrometers, zum Beispiel durch Stoßaktivierung (Collisional activation, CA) oder durch Laser lassen sich Ionenstrukturen aufklären.

Schon zu Beginn der Anwendung der Massenspektrometrie in der organischen Chemie wurde von Beynon (1) der Vorschlag gemacht, Hochauflösungsmessungen durchzuführen, um durch die hierbei erreichbare Genauigkeit in der Massenbestimmung zu exakten Aussagen über die elementare Zusammensetzung von Ionen zu gelangen. Die gerätetechnischen Voraussetzungen hierfür wurden mit den hochauflösenden Massenspektrometern geschaffen, die durch Kombination einer magnetischen mit einer elektrischen Ablenkung eine Doppelfokussierung des Ionenstrahls bewirken. Die Abbildungseigenschaften des Spektrometers konnten damit entscheidend verbessert werden, da nun auch Ionen unterschiedlicher kinetischer Energie fokus-

siert werden.

Diese Messungen erfolgten anfangs durch Vergleich der Massen mit denen einer Referenzsubstanz über die Variation der Beschleunigungsspannung ("peak matching") oder durch Aufnahme des Spektrums auf einer Photoplatte. Mit dem Aufkommen von Minicomputern setzte sich jedoch die elektrische Registrierung der Spektren mit Hilfe eines am Spektrometer angeschlossenen Datensystems durch. Die exakte Massenberechnung wird hierbei vom Rechner mit einer Referenzsubstanz durchgeführt, die entweder zusammen mit der zu vermessenden Substanz oder in einem getrennten Durchlauf gemessen wird. Der Rechner übernimmt anschließend die Ermittlung der Elementarzusammensetzung der Ionen aus den berechneten Massen.

Obwohl die Durchführung von Hochauflösungsmessungen durch den Einsatz von Computern entscheidend vereinfacht worden ist, verzichten viele Anwender auf den im Vergleich zu niederaufgelösten Massenspektren bedeutend höheren Informationsgehalt der hochaufgelösten Spektren. Einer der Gründe hierfür liegt sicher darin, daß Hochauflösungsmessungen nach wie vor eine sorgfältigere Einstellung der Geräteparameter des Massenspektrometers verlangen, um zu brauchbaren Meßergebnissen zu gelangen. Auch ist der Zeitaufwand für die Messung höher als bei niederaufgelösten Spektren.

Des weiteren hat sich bei der Identifizierung unbekannter Verbindungen der durch den Computer durchgeführte Vergleich des niederaufgelösten Spektrums mit einer Spektrenbibliothek als sehr erfolgreich erwiesen, wodurch in vielen Fällen auf die Hochauflösung verzichtet werden kann. Während die Bibliotheksuche ein weitgehend automatisiertes Verfahren für die Strukturaufklärung darstellt, fehlt es für die Auswertung hochaufgelöster Massenspektren häufig an geeigneten Auswerteprogrammen, die die Informationsfülle auf ein überschaubares Maß reduzieren.

Trotz dieser Einschränkungen ist die Hochauflösungsmassenspektrometrie ohne Zweifel ein wichtiges analytisches Hilfsmittel. Die Bestimmung der Summenformel einer Verbindung durch Massenfeinbestimmung des Molekülionpeaks ist anerkannt als Alternative zur klassischen Elementaranalyse bei weitaus geringerem Proben- und Zeitaufwand. Die Spektreninterpretation bei Verbindungsklassen, über deren Fragmentierung noch wenig bekannt ist, wird durch Hochauflösungsdaten wesentlich erleichtert, denn die Diskussion von Ionenstrukturen bleibt ohne gesicherte Kenntnis der elementaren Zusammensetzung der Ionen fragwürdig.

2. Zielsetzung der Arbeit

Wie eingangs erwähnt, stellt das Fehlen geeigneter Auswert- und Interpretierprogramme häufig ein Hindernis für einen breiteren Einsatz der Hochauflösungsmassenspektrometrie dar. Bisher bekannte Programme haben meist den Mangel, daß sie bei der Berechnung elementarer Zusammensetzungen der Ionen eines hochaufgelösten Massenspektrums lediglich umfangreiche Vorschlagslisten erstellen. Dem Anwender bleibt es überlassen, aus der Vielzahl der vorgeschlagenen Formeln für ein Ion zunächst die offensichtlich chemisch nicht sinnvollen Vorschläge herauszustreichen und unter Berücksichtigung von Massenabweichung und Kenntnis der Fragmentierung unter den verbleibenden Vorschlägen die wahrscheinlichste Elementarzusammensetzung herauszusuchen.

Ziel dieser Arbeit war es, rechnergestützte Auswerteverfahren zu entwickeln, die durch eine sinnvolle Reduktion der Meßdaten den Anwender bei der Interpretation unterstützen. Hierzu gehört zunächst die Frage nach den möglicherweise vorhandenen Elementen bei Spektren unbekannter Verbindungen. Der Kreis der in Frage kommenden Elemente sollte von vornherein möglichst gering gehalten werden, um nicht zu unzumutbar langen Rechenzeiten und einer Vielzahl möglicher Elementkombinationen zu kommen. Formeln, die aufgrund von Valenzbetrachtungen chemisch nicht sinnvoll sind, sollten ebenso ausgeschieden werden wie solche, deren berechnetes Isotopenpattern nicht mit dem im Spektrum gefundenen übereinstimmt. Des weiteren sollte das Auswerteprogramm bei unbekannten Verbindungen bereits Hinweise auf das Molekülion im Spektrum liefern.

Diese Forderungen bedeuten, daß in die Auswertealgorithmen chemisches Wissen, wie z. B. Isotopenhäufigkeiten, Stabilität von Fragmentionen und Fragmentierungsregeln eingearbei-

tet werden muß. Für diese Aufgabe standen ein Datensystem "SS200" der Firma Varian MAT mit einem PDP 11/34-Minicomputer als Zentralrechner sowie eine Sammlung von mehr als 200 hochaufgelösten Massenspektren zur Verfügung.

In einem weiteren Teil der Arbeit sollte die Fragmentierung einer Verbindungsklasse unter Anwendung verschiedener massenspektrometrischer Meßtechniken aufgeklärt werden.

3. Rechnergestützte Auswertung hochaufgelöster Massenspektren

3.1 Literaturübersicht

Die Verfahren, die zur automatischen Interpretation von Massenspektren durch einen Computer entwickelt wurden, lassen sich einer der drei folgenden Gruppen zuordnen:

1. Bibliotheksuche
2. Pattern recognition
3. Interpretierende Verfahren

Die Bibliothekssuche ist die bisher am weitesten verbreitete Methode zur automatischen Identifizierung unbekannter Spektren. Der Computer kann hierbei auf eine umfangreiche Sammlung gespeicherter Massenspektren zurückgreifen und vergleicht die Peakintensitäten des unbekannten Spektrums mit denen der Bibliotheksspektren. Ziel ist es, entweder das Spektrum der unbekannten Verbindung in der Bibliothek zu finden, oder aber zumindest eine Liste von Verbindungen, deren Spektren dem gesuchten ähneln. Im ersten Fall kann die Identifizierung der unbekannten Verbindung als abgeschlossen betrachtet werden, im zweiten Falle erhält man Hinweise auf Substanzklasse und Struktur der Verbindung.

Da der Erfolg dieser Methode stark vom Umfang der zur Verfügung stehenden Spektrensammlung abhängt und andererseits eine größere Bibliothek den Speicherplatzbedarf und die Suchzeit entsprechend vergrößert, werden die Massenspektren meist in abgekürzter Form gespeichert. Eine Reihe von Verfahren (2,3,4,5) berücksichtigt nur die n intensivsten Peaks im Spektrum, wobei n meist zwischen 6 und 12 liegt.

Von Biemann (6) stammt der Vorschlag, aus einem Intervall von 14 Masseneinheiten jeweils die beiden intensivsten Peaks auszuwählen. Dieses als "2 aus 14" bekannte Verfahren berücksichtigt, daß gerade die charakteristischen Ionen einer Verbindung häufig eine geringe Intensität haben und in einem anderen Massenbereich liegen als die intensivsten Peaks des Spektrums. Andere Techniken zur Reduzierung des Umfanges der Spektrenbibliothek verwenden anstelle der zahlenmäßigen Intensität der Ionen im Spektrum nur die Information "Peak vorhanden" oder "Peak nicht vorhanden" (7,8).

Das von McLafferty und Mitarbeitern (9,10,11) entwickelte "Probability based matching"-Programm geht davon aus, daß bestimmte Massenzahlen in sehr vielen Spektren vertreten und daher wenig signifikant sind. Beim Spektrenvergleich werden deshalb Peaks, die bei weniger häufigen Massenzahlen erscheinen, stärker berücksichtigt. Abramson (12) schlug vor, beim Spektrenvergleich nur zu prüfen, ob die Peaks des Referenzspektrums im unbekannten Spektrum vorhanden sind und nicht, wie sonst üblich, umgekehrt. Diese Technik, die als "reverse search" bezeichnet wird, vermeidet, daß Verunreinigungen im Spektrum der unbekannten Substanz den Erfolg der Bibliotheksuche beeinträchtigen.

Ein gänzlich anderer Ansatz liegt den Verfahren zugrunde, die unter den Begriff "Pattern recognition" (Mustererkennung) fallen. Bei diesen Methoden wird versucht, aus dem vorhandenen Datenmaterial (=Massenspektrum) auf eine bestimmte Eigenschaft eines Objektes (=chemische Verbindung) zu schließen. Eine typische Fragestellung wäre beispielsweise, ob eine Verbindung, deren Massenspektrum vorliegt, Stickstoff enthält oder nicht. Diese Frage kann nicht direkt aus dem Spektrum beantwortet werden, da es keine Massenzahlen gibt, die für Stickstoff spezifisch sind.

Die Pattern-recognition-Verfahren versuchen nun, aufgrund einer bestimmten Entscheidungsregel (Klassifikator) die vorliegenden Massenspektren in zwei Klassen (Eigenschaft vorhanden / nicht vorhanden) einzuteilen. Voraussetzung ist ähnlich wie bei den Bibliotheksuchverfahren eine größere Sammlung von Spektren, bei denen das Vorhandensein / Nichtvorhandensein der gesuchten Eigenschaft bekannt ist. Aus diesem sogenannten Training Set wird die Entscheidungsregel gewonnen, die später bei unbekannten Spektren angewandt werden kann.

Bei der Anwendung in der Massenspektrometrie wird das Spektrum als ein Vektor in einem n -dimensionalen Raum aufgefaßt, wobei die Zahl n der Zahl der Peaks im Spektrum entspricht, deren Intensitäten die Beträge der n Komponenten dieses Vektors angeben. Eine einfache Methode zur Klassifizierung besteht nun darin, daß zunächst im Training Set die Schwerpunktskoordinaten der beiden Klassen in dem n -dimensionalen Raum (durch Mittelwertbildung der einzelnen Komponenten für alle Spektren einer Klasse) ermittelt werden und unbekannte Spektren durch ihren Abstand zu den Klassenschwerpunkten einer der beiden Klassen zugeordnet werden.

Ein anderes Verfahren, das als "Learning machine" bezeichnet wird, beruht auf einer grundlegenden Veröffentlichung über die Theorie von Lernmaschinen von Nilsson (13). Hierbei wird versucht, eine Ebene zu finden, die die beiden Klassen voneinander trennt. Ausgehend von einer willkürlich gelegten Ebene wird die Lage dieser Ebene im Raum bei jeder falschen Klassifizierung im Trainingssatz soweit korrigiert, daß eine richtige Zuordnung erfolgt. Nach einer endlichen Zahl von Iterationsschritten wird eine endgültige Entscheidungsebene gefunden, sofern das Datenmaterial des Trainingssatzes nicht zu inhomogen ist.

Von Kowalski und Bender (14) wurde die "K-nearest-neighbor"-Methode angegeben. Die Zuordnung eines unbekannten Spektrums zu einer der beiden Klassen erfolgt hierbei durch Ermittlung einer Anzahl von K Spektren aus dem Trainingssatz, die dem unbekannten Spektrum, gemessen an der räumlichen Distanz, am nächsten liegen. Das unbekannte Spektrum wird der Klasse zugeteilt, der die Mehrzahl der gefundenen Spektren angehört. Nachteil dieses Verfahrens im Vergleich zu den beiden vorher genannten ist, daß ähnlich wie bei der Bibliotheksuche das Spektrum der unbekannten Verbindung mit jedem Spektrum des Trainingssatzes verglichen werden muß.

Überblicke über weitere Methoden und Anwendungen von Pattern recognition in der Analytischen Chemie geben Isenhour und Jurs (15), Chapman (16), und Varmuza (17,18). Zusammenfassend muß jedoch gesagt werden, daß im Gegensatz zu der großen Zahl von Veröffentlichungen, die sich mit Pattern-recognition-Verfahren bei chemischen Fragestellungen beschäftigen, die tatsächlich erfolgten Anwendungen dieser Methode gering sind.

Im Gegensatz zu den bisher besprochenen Ansätzen zur automatischen Strukturaufklärung liegt bei den interpretierten Verfahren der Schwerpunkt weniger auf der Ausnutzung der Fähigkeiten des Computers zur schnellen Durchführung mathematischer Berechnungen und Verarbeitung großer Datenmengen. Vielmehr wird versucht, die Vorgehensweise eines Chemikers bei der Interpretation eines Spektrums im Computerprogramm nachzuahmen. Hierzu ist es erforderlich, in das Programm das Wissen über den Zusammenhang zwischen der Struktur einer Verbindung und ihrem Spektrum einzubauen. Anders als bei der Bibliothekssuche und den Pattern-recognition-Methoden werden also keine Spektrensammlungen benötigt; es handelt sich um ab-initio-Verfahren. Diese Verfahren werden häufig auch als "heuristisch" oder mit dem Schlagwort "artificial intelligence" bezeichnet.

Erste Ansätze zu solchen Programmen stammen von Barber und Mitarbeitern (19), die eine automatische Analyse einfacher Peptide aus hochaufgelösten Massenspektren verwirklichten, sowie von Patterson und Ryhage (2), die eine Substanzklassenidentifizierung bei niederaufgelösten Spektren anhand von charakteristischen Peaks vornahmen. Crawford und Morrison machten Vorschläge zur computergerechten Verschlüsselung von Strukturen chemischer Verbindungen für massenspektrometrische Anwendungen (20).

Größere Bedeutung haben zwei umfangreiche Programmsysteme erlangt, die von Lederberg, Djerassi und Mitarbeitern (21-24) bzw. der Arbeitsgruppe McLafferty (25-30) entwickelt wurden. Das eine Programm, DENDRAL genannt, wendet empirische Regeln über massenspektrometrische Fragmentierungen an. Es erfordert, daß die Summenformel der Verbindung bekannt ist und dem Programm zu Beginn mitgeteilt wird. Anhand des niederaufgelösten Spektrums wird dann versucht, die Verbindungsklasse, der die Verbindung angehört, zu ermitteln. Fragmentierungsregeln für die Interpretation der Spektren von Ketonen, aliphatischen Ethern und gesättigten Aminen wurden in den Algorithmus eingebaut. Bei Ketonen beispielsweise wird nach Paaren von Fragmentationen gesucht, die sich aus den α -Spaltungen beiderseits der Keto-Gruppe ergeben. Die Summe der Massenzahlen der beiden Fragmente muß demzufolge um 28 Masseneinheiten höher liegen als die Molmasse der Verbindung.

Das Programm generiert anschließend für die gegebene Summenformel sämtliche möglichen und chemisch sinnvollen Strukturen, wobei die Bedingung gilt, daß alle vorher gefundenen funktionellen Gruppen in der Struktur enthalten sein müssen. Für jede Struktur wird ein synthetisches Massenspektrum erzeugt, das mit dem Originalspektrum verglichen wird. Als Resultat liefert das Programm eine Liste mit einer Reihen-

folge dieser Strukturen, die den Grad der Übereinstimmung ausdrückt. Später wurde das Programm erweitert auf die Interpretation hochaufgelöster Massenspektren, was am Beispiel von Östrogen-Steroiden (31) demonstriert wurde.

Da jede Substanzklasse einen gesonderten Algorithmus erfordert, ist das Programm vergleichsweise umfangreich und nur mühevoll auf neue Verbindungsklassen zu erweitern.

Eine Mischung aus Bibliotheksuche und Interpretation stellt das von Venkataraghavan, McLafferty und Mitarbeitern entwickelte "Self-Training Interpretive and Retrieval System" (STIRS) dar. Das Programm enthält 15 Klassen massenspektrometrischer Daten, wie charakteristische Ionen, Ionenserien, Neutralfragmente, jedoch nicht die Zuordnung dieser Daten zu bestimmten Strukturelementen. Bei der Interpretation eines unbekannten Massenspektrums wird ein Vergleich mit einer Bibliothek von ca. 30000 Referenzspektren durchgeführt, für die annähernd 200 Strukturelemente dem Programm bekannt sind. Es werden diejenigen Spektren herausgesucht, die mit dem unbekannten bezüglich dieser 15 Klassen am besten übereinstimmen. Anhand dieser Liste von Referenzspektren kann das Programm Voraussagen über das Vorhandensein bestimmter Struktureigenschaften bei der unbekannten Verbindung machen.

Vorteilhaft an diesem System ist, daß bei Erweiterungen um neue Substanzklassen lediglich die Bibliothek der Referenzspektren erweitert werden muß, während der eigentliche Algorithmus unverändert bleiben kann. Andererseits können naturgemäß nur solche Strukturelemente erkannt werden, die auch in einigen Referenzspektren enthalten sind.

Von beiden genannten Arbeitsgruppen stammen auch Programme zur Vorhersage des Moleküllions aus dem Spektrum (32, 33).

3.2 Ermittlung der Elemente aus dem Massenspektrum

Die Genauigkeit der Massenbestimmung und damit die Aussagekraft eines hochaufgelösten Massenspektrums wird häufig überschätzt. Fahr kam zwar in einem Ringversuch (34) zu dem abschließenden Urteil, daß "massenspektrometrische Präzisionsmassenbestimmungen mit kommerziellen Geräten mit einer Genauigkeit ausgeführt werden können, die bezüglich der Berechnung der elementaren Zusammensetzung von Substanzen und ihren Fragmenten im allgemeinen ausreichend ist". Die in dem Ringversuch erreichten mittleren absoluten Standardabweichungen bei der Massenfeinbestimmung lagen jedoch zwischen 1 und 6 mmu (Millimasseneinheiten).

Formel	Massenzahl	Abweichung (mmu)
$C_{18}H_{18}N_3O_3S_2$	388.0790	-1.3
$C_{18}H_{10}N_7O_4$	388.0794	-0.9
$C_{26}H_{14}NOS$	388.0796	-0.7
$C_{20}H_{20}O_4S_2$	388.0803	0.0
$C_{20}H_{12}N_4O_5$	388.0808	0.5
$C_{21}H_{16}N_4S_2$	388.0816	1.3
$C_{22}H_{14}NO_6$	388.0821	1.8

Tab. 3.1 Elementkombinationen in einem Toleranzbereich von +/- 2 mmu um die Massenzahl 308.0803

Tabelle 3.1 zeigt an einem einfachen Beispiel, einem Ion mit der Elementarzusammensetzung $C_{20}H_{20}O_4S_2$ und der Massenzahl 388.0803, daß in der Praxis erheblich höhere Genauigkeit gefordert werden muß, um zu zweifelsfreien elementaren Zusammensetzungen von Ionen zu kommen. Aufgeführt sind alle

Elementkombinationen mit C, H, N, O und S, die bis zu 2 mmu von der richtigen Masse abweichen und chemisch sinnvoll sind. Es zeigt sich, daß für die Unterscheidung zwischen $C_{20}H_{20}O_4S_2$ und $C_{20}H_{12}N_4O_5$ (Differenz 0.5 mmu) eine Standardabweichung von etwa 0.2 mmu bei der Massenbestimmung zu fordern ist. Dieser Wert wurde von den meisten hochauflösenden Massenspektrometern jedoch nicht erreicht, wie der oben angeführte Ringversuch zeigt.

Die Genauigkeit der Massenbestimmung darf in der Regel nur dann wesentlich geringer sein, wenn bestimmte Elemente, in diesem Falle Stickstoff, in der Probe ausgeschlossen werden können. Ist über die Herkunft einer Probe jedoch nichts bekannt, müssen bei der Berechnung der elementaren Zusammensetzung der Ionen des Spektrums durch den Computer zwangsläufig eine ganze Reihe von Heteroelementen zugelassen werden. Dies führt neben einer Verlangsamung der Rechengeschwindigkeit zu einem starken Ansteigen der Zahl der möglichen Elementkombinationen, die zu einer gegebenen Masse innerhalb eines Toleranzbereiches passen (s. Tabelle 3.2).

Zugelassene Elemente	Elementkombinationen im Toleranzbereich	Rechenzeit (s)
C,H,O	1	0.2
C,H,O,N	5	1.8
C,H,O,N,F	19	10.5
C,H,N,O,F,P	71	52.0

Tab. 3.2 Zahl der Elementkombinationen und Rechenzeit in Abhängigkeit von der Zahl der zugelassenen Elemente für eine gegebene Masse

Hierdurch wird die Aussagekraft des hochaufgelösten Spektrums gemindert.

Die erwähnten Schwierigkeiten führten uns zu der Frage nach einem automatischen Testverfahren, mit dem die Elemente, die in einem hochaufgelösten Massenspektrum vertreten sind, mit einer genügenden Sicherheit vorausgesagt werden können. Nachdem Versuche mit den in der Literaturübersicht angegebenen Pattern-recognition-Verfahren wenig erfolgreich verliefen, kamen wir zu einem neuartigen Verfahren, das in der Form eines Computerprogramms zu schnellen und vergleichsweise zuverlässigen Ergebnissen führt. Es ist der Gruppe der interpretierenden Verfahren zuzuordnen, da in das Programm Vorwissen über die Prinzipien, die der Bildung eines Massenspektrums zugrunde liegen, eingebracht wurde.

Im folgenden werden das Prinzip und die programmtechnische Verwirklichung dieses Algorithmus näher erläutert und die erzielten Ergebnisse dargelegt.

3.2.1 Prinzip des Verfahrens

Das neue Verfahren betrachtet nicht mehr die Massenzahlen eines Spektrums, sondern die Differenzen zwischen Massen innerhalb eines vorgegebenen Intervalls. Von jedem Peak des Spektrums werden die Massendifferenzen zu allen anderen in der Nähe liegenden Peaks berechnet. Zu diesen gebildeten Massendifferenzen werden die elementaren Zusammensetzungen in der gleichen Weise berechnet, als ob es sich um die ursprünglichen Massen handeln würde. Durch die Beschränkung auf relativ kleine Massendifferenzen wird erreicht, daß für diese Werte nur wenige Elementkombinationen im vorgegebenen Toleranzbereich liegen, die zudem sehr schnell zu berechnen

sind.

An einem Beispiel soll dies erläutert werden: In einem hochaufgelösten Massenspektrum finden sich die Massen 388.0813 und 355.1024. Die Differenz beträgt 32.9779. In der Nähe dieser neuen Massenzahl liegen die in Tabelle 3.3 aufgeführten Elementkombinationen, die nicht unbedingt chemisch sinnvolle Fragmente darstellen müssen, da hier nur die Unterschiede in den elementaren Zusammensetzungen zweier Ionen betrachtet werden, nicht aber der Fragmentierungsverlauf als solcher.

Formel	Masse	Abweichung (mmu)
SH	32.9799	2.0
PH ₂	32.9894	11.5
HO ₂	32.9977	19.8
NF	33.0015	23.6
CH ₂ F	33.0141	36.2
H ₃ NO	33.0215	43.6
CH ₅ O	33.0340	56.1
N ₂ H ₅	33.0453	67.4

Tab. 3.3 Elementkombinationen im Bereich der Massenzahl 33

Selbst wenn man eine relativ große Toleranz in der Massenbestimmung von 5 mmu* zuläßt, scheiden alle Elementkombinationen außer SH aus. Handelt es sich bei den beiden angenommenen Peaks um intensive Ionen im Spektrum, kann der Schluß gezogen werden, daß die vorliegende Verbindung Schwefel enthält.

* Die Standardabweichung vergrößert sich bei der Differenzenbildung um den Faktor $\sqrt{2}$

Ähnlich verhält es sich bei vielen anderen Massendifferenzen, für die zwar im Niederauflösungsspektrum isobare Summenformeln angenommen werden müssen, die jedoch im hochauflösten Spektrum selbst bei geringer Genauigkeit in der Massenbestimmung eindeutig unterschieden werden können. Als weitere Beispiele seien hier die Massenzahlen 17 und 28 angeführt:

OH	17.0027	CO	27.9949
NH ₃	17.0265	N ₂	28.0061
		C ₂ H ₄	28.0313

Um das Vorhandensein eines Heteroelementes in einem Spektrum sicher zu erkennen, genügt es im allgemeinen jedoch nicht, eine einzige passende Elementkombination mit dem betreffenden Element gefunden zu haben, da zufällige Koinzidenzen oder Verunreinigungen im Spektrum nicht ausgeschlossen werden können. Vielmehr muß das gesamte Spektrum ausgewertet werden und eine Entscheidung auf statistischer Basis getroffen werden.

3.2.2 Programmtechnische Verwirklichung

Für die Ermittlung der Elemente aus dem Massenspektrum ist es nicht erforderlich, das gesamte Spektrum mit allen Peaks auszuwerten. Es reicht aus, sich auf eine Anzahl charakteristischer Ionen zu beschränken. Daher wird das zu testende Spektrum zunächst reduziert. Angewendet wird ein "3 aus 14"-Verfahren, d. h., das Spektrum wird in Intervalle von 14 Masseneinheiten unterteilt, aus denen jeweils die drei intensivsten Peaks für das reduzierte Spektrum ausgewählt werden. Als weitere Bedingung gilt dabei, daß alle Peaks um mindestens zwei Masseneinheiten (nominell) auseinanderliegen

müssen. Hierdurch werden ein Großteil der Isotopenpeaks eliminiert und Cluster, die durch unterschiedliche Zahl von Wasserstoffatomen entstehen, auf einen stellvertretenden Peak reduziert. Die Spektrenreduktion verkürzt die Rechenzeit entscheidend, ohne daß dabei ein wesentlicher Verlust an Information entsteht. Abbildung 3.1 zeigt die Wirkung der Spektrenreduzierung an einem Beispiel.

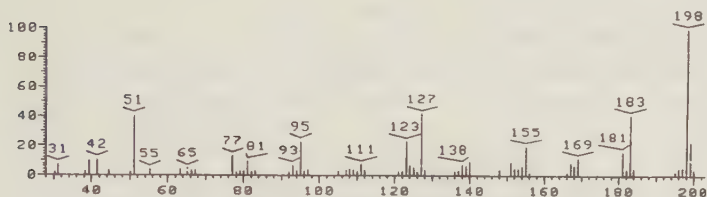


Abb. 3.1a Nichtreduziertes Massenspektrum der Verbindung I mit 75 Peaks



Abb. 3.1b Nach dem 3-aus-14-Verfahren reduziertes Spektrum mit 33 Peaks

Anschließend werden ausgehend von jedem Peak im Spektrum die Massendifferenzen zu allen höherliegenden Peaks gebildet,

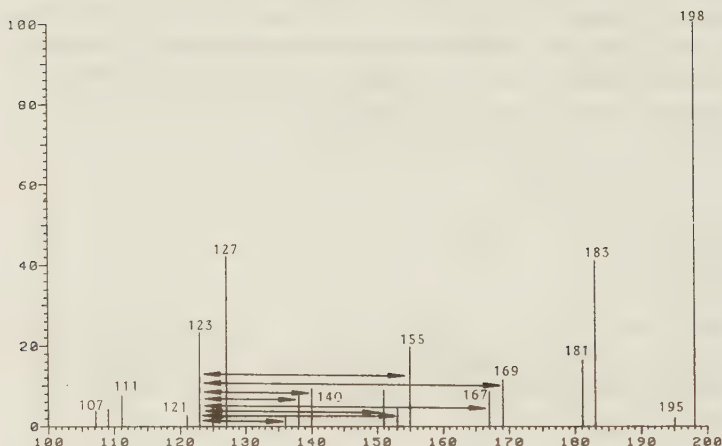


Abb. 3.2 Bildung der Massendifferenzen am Beispiel des Ion m/z 123

wie es in Abbildung 3.2 für das Ion m/z 123 veranschaulicht ist. Betrachtet werden jedoch nur Massendifferenzen im Bereich von 13.9 bis 55 Masseneinheiten. Die untere Grenze ergibt sich daraus, daß Massendifferenzen unterhalb des Wertes 13.9 in der organischen Massenspektrometrie keine sinnvollen Elementkombinationen außer mit Kohlenstoff und Wasserstoff darstellen können. Die obere Grenze stellt einen Erfahrungswert dar, der bei Anwendung des Programms auf eine größere Anzahl hochaufgelöster Massenspektren zu den besten Resultaten führte. Zu den gebildeten Massendifferenzen werden die möglichen Elementkombinationen berechnet, wobei die in der organischen Massenspektrometrie am häufigsten vorkommenden Elemente Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff, Phosphor, Schwefel, Fluor und Chlor zugelassen sind. Die Elemente Brom und Iod, deren Atommassen die maximal zugelassene Massendifferenz überschreiten, werden in einem ge-

sonderten Programmteil betrachtet.

Alle gefundenen Elementkombinationen müssen mit ihren theoretischen Massen in einem Toleranzbereich von 5 mmu um die aus dem Spektrum ermittelte Massendifferenz liegen. Sie werden außerdem einer Betrachtung der Valenzen unterzogen. Dies erwies sich empirisch als zweckmäßig, obwohl nicht Massenfragmente, sondern nur Unterschiede in den elementaren Zusammensetzungen zweier Ionen betrachtet werden. Durch den Test der Valenzen werden alle übersättigten Strukturen, wie z. B. C_2H_7 , als auch stark ungesättigte Elementkombinationen, wie C_3H eliminiert. (Genauere Erläuterungen zum Algorithmus der Formelberechnung und Valenzenbetrachtung werden im Abschnitt 3.3 gegeben.)

Findet das Programm mehrere passende Formeln im Toleranzbereich, wird die Formelzusammensetzung, die die geringere Massenabweichung vom gesuchten Wert aufweist, bevorzugt. Liegen jedoch die Massenabweichungen zweier Formeln nahe beieinander (innerhalb von einem Drittel der maximal zugelassenen Toleranz), wird zusätzlich betrachtet, ob die Zahl der Heteroatome unterschiedlich ist. In diesem Falle wird der Formel mit der geringeren Zahl der Heteroatome der Vorzug gegeben, da bei organischen Verbindungen die Abspaltungen von Fragmenten mit mehreren Heteroatomen ohne einen entsprechenden Anteil an Kohlenstoff und Wasserstoff weniger wahrscheinlich ist.

Die Berechnung der möglichen Elementkombinationen für die gebildeten Massendifferenzen führt in dem oben als Beispiel angegebenen Spektrum für das Ion m/z 123 als untere Massenzahl für die Bildung der Massendifferenzen zu den in der Tabelle 3.4 angegebenen Daten.

Ionenpaar	gefundene Massendifferenz	gefundene Element- kombination	Abweichung zur theor. Masse
138-123	15.0228	CH ₃	0.0007
140-123	17.0031	OH	0.0004
151-123	27.9939	CO	0.0010
153-123	30.0090	CH ₂ O	0.0016
155-123	32.0263	CH ₄ O	0.0001
167-123	44.0244	C ₂ H ₄ O	0.0018
169-123	46.0405	C ₂ H ₆ O	0.0014

Tab. 3.4 Beispiel für die Berechnung von Massendifferenzen in einem gegebenen Spektrum

Gleichartige Berechnungen werden für alle anderen Ionen des Spektrums durchgeführt, wobei immer ausgehend von einem Peak die Massendifferenzen zu allen im Spektrum höherliegenden gebildet werden.

Die Elemente Brom und Iod fallen, wie bereits erwähnt, nicht in den Bereich der Massendifferenzen, die hierbei betrachtet werden. Für diese Elemente wird deshalb in einem anschließenden Programmteil die maximale Massendifferenz auf 128 Masseneinheiten erweitert. Da beide Elemente im Massenspektrum in der Regel mit ihren charakteristischen Massen als Differenzen auftreten, werden keine Kombinationen mit anderen Elementen (ausgenommen Wasserstoff) gebildet. Für Brom wird die Untersuchung auf im Spektrum möglicherweise vorhandene Massendifferenzen von Br bzw. HBr für beide Isotope durchgeführt. Daneben wird in diesem Programmteil auch nach den bei den Elementen Fluor und Schwefel häufig als Differenzen auftretenden Massenbruchstücken CF₃ bzw. SO₂ gesucht.

Die Isotopenhäufigkeiten einiger Elemente bieten weitere Anhaltspunkte, um aus dem Massenspektrum auf ihr Vorhandensein zu schließen. Bei den Schwefelisotopen ^{32}S und ^{34}S , den Chlorisotopen ^{35}Cl und ^{37}Cl und den Bromisotopen ^{79}Br und ^{81}Br bietet sich die Aufspaltung der Signale auf zwei durch 2 Masseneinheiten getrennte Peaks an. (Das Schwefelisotop ^{33}S ist wegen seiner geringeren Intensität weniger geeignet.)

Isotop	natürliche Häufigkeit nach (35)	Atommasse (mu)	Massendifferenz zwischen den Isotopen (mu)
^{32}S ^{34}S	95.02 % 4.21 %	31.9721 33.9679	$\Delta(^{34}\text{S} - ^{32}\text{S}) = 1.9958$
^{35}Cl ^{37}Cl	75.77 % 24.23 %	34.9689 36.9659	$\Delta(^{37}\text{Cl} - ^{35}\text{Cl}) = 1.9970$
^{79}Br ^{81}Br	50.69 % 49.31 %	78.9183 80.9163	$\Delta(^{81}\text{Br} - ^{79}\text{Br}) = 1.9980$

Tab. 3.5 Natürliche Isotopenhäufigkeit, Atommassen und Massendifferenz von Schwefel-, Chlor- und Bromisotopen

Tabelle 3.5 zeigt die natürlichen Häufigkeiten, Atommassen und Differenzen zwischen den Isotopen. Im Rahmen dieses Programms, das nur einen Vortest über die zu erwartenden Elemente liefern soll, wurde auf eine genaue Analyse der Isotopenmuster im Spektrum verzichtet. Es wurde ein einfacher Algorithmus gewählt, der wiederum auf der Bildung von Mas-

sendifferenzen beruht. Die exakten Massendifferenzen der Isotope der genannten Elemente liegen unterhalb von 2 nominalen Masseneinheiten und können daher auch bei mäßig hoher Auflösung leicht von Peakgruppen mit unterschiedlichem Gehalt an Wasserstoffatomen ($2 \cdot M_H = 2.0157$ mmu) unterschieden werden. Sie liegen allerdings zu nahe beieinander, als daß zwischen diesen Elementen bei der diesem Programm zugrunde gelegten Genauigkeit in der Massenbestimmung unterschieden werden könnte.

Im gesamten Spektrum wird daher noch vor der Spektrenreduzierung nach Peaks gesucht, die durch die in Tabelle 3.5 aufgeführten Differenzen getrennt sind (innerhalb eines vom Anwender anzugebenden Toleranzbereiches, der sich nach der Genauigkeit bei der Massenfeinbestimmung richtet und ≤ 5 mmu sein sollte). Wird ein solches Paar gefunden, wird das Intensitätsverhältnis der betreffenden Peaks, das für S, Cl und Br verschiedene Werte annimmt, betrachtet.

Liegt die Intensität des höherliegenden Peaks im Bereich von 2 - 15 % des unteren, werden diese Ionen als schwefelhaltig erkannt. Die obere Grenze von 15 % erlaubt das Erkennen von Ionen, die bis zu 3 Schwefelatome enthalten. Liegt das Intensitätsverhältnis zwischen 25 und 50 %, wird auf Chlor geschlossen. Hier erlaubt zwar die Toleranz für das Intensitätsverhältnis nur das Erkennen von einem Chloratom in einem Ion. In der praktischen Anwendung erwies sich dies jedoch als ausreichend zur sicheren Identifizierung von Chlor in einem Massenspektrum. Aus dem gleichen Grunde wird an dieser Stelle des Programms nicht auf Bromisotope geprüft, da dieses Element bereits im vorher beschriebenen Programmteil im allgemeinen sicher erkannt wird.

Dieses relativ einfache Testverfahren für Schwefel und Chlor bringt eine Ergänzung zur Vorhersage dieser Elemente, selbst dann, wenn beide Elemente nebeneinander im Spektrum vorliegen. So werden im Massenspektrum einer Verbindung mit der

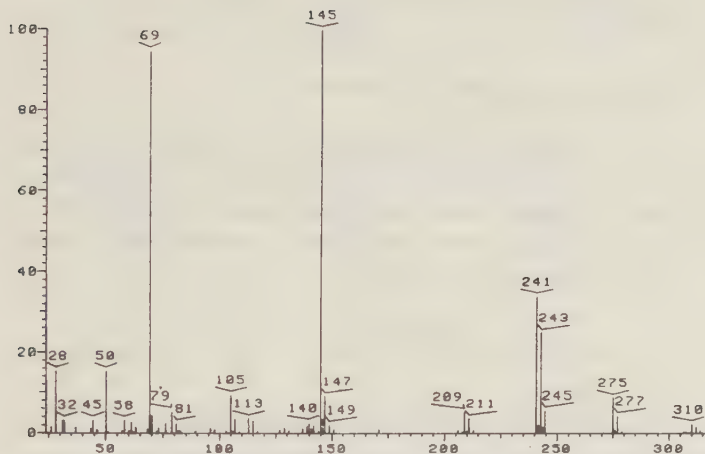


Abb. 3.3 Massenspektrum der Verbindung II
($C_5H_2Cl_2F_6S_2$)

Summenformel $C_5H_2Cl_2F_6S_2$ (Massenspektrum s. Abb. 3.3) 5 Massendifferenzen für Schwefel und 7 für Chlor gefunden. Dieser zusätzliche Test ist insbesondere für Schwefel von Wichtigkeit. Dieses Element tritt bei der Ionisierung organischer Verbindungen bevorzugt als Ladungsträger auf und ist deshalb im Spektrum überwiegend in den Signalen selbst und weniger in den Abspaltungsprodukten vertreten. Es wird daher im allgemeinen Programmteil häufig nicht erkannt.

Für eine abschließende Aussage über das Vorhandensein eines Elements müssen die gefundenen passenden Massendifferenzen bewertet und zu einem normierten Index zusammengefaßt werden, der dem Programm als Entscheidungsgrundlage dient. Es wird nach zwei Kriterien gewichtet:

1. Abweichung von der theoretischen Massendifferenz

2. Intensität der Ionen im Spektrum

Die absolute Differenz $|d_m|$ zwischen der theoretischen Massendifferenz und der im Spektrum gefundenen wird ins Verhältnis gesetzt zur maximal zulässigen Abweichung T_m und liefert einen Faktor F_d , dessen Wert zwischen 0 (=größte Abweichung) und 1 (= keine Abweichung) liegt.

$$F_d = \frac{T_m - |d_m|}{T_m} \quad (1)$$

Die Intensitäten I_1 und I_2 der beiden Peaks, deren Massendifferenz betrachtet wird, ergeben in Form ihres geometrischen Mittels einen zweiten Bewertungsfaktor F_i :

$$F_i = \sqrt{I_1 \cdot I_2} \quad (2)$$

Das geometrische Mittel wurde dem arithmetischen vorgezogen, da eine gefundene sinnvolle Massendifferenz zwischen zwei mittelgroßen Peaks im Spektrum höher bewertet werden soll als die zwischen einem sehr intensiven und einem sehr schwachen Peak. Die Gefahr, daß Verunreinigungen im Spektrum die Auswertung beeinträchtigen, wird dadurch verringert. Da die Peakintensitäten programmintern auf Werte zwischen 1 und 10000 normiert sind, liegen die Werte für diesen Bewertungsindex in demselben Bereich.

Das Produkt der beiden Faktoren ergibt eine Punktzahl, mit der die zu einer Massendifferenz gefundenen Elementkombinationen bewertet werden:

$$P = F_d \cdot F_i \quad (3)$$

Für die Massendifferenzen aus Tabelle 3.4 ergeben sich hiermit die in Tabelle 3.6 aufgeführten Punktzahlen.

Ionenpaar	Elementkombination	Punktzahl P
138-123	CH_3	532
140-123	OH	639
151-123	CO	534
153-123	CH_2O	326
155-123	CH_4O	989
167-123	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$	415
169-123	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	559

Tab. 3.6 Punktzahlen für die Massendifferenzen
aus Tab. 3.4

Jedem Element, das in der gefundenen Formel vertreten ist, wird diese Punktzahl zugeschlagen. Dies geschieht für alle im Spektrum gefundenen und zugeordneten Massendifferenzen. Am Ende des Programmlaufs werden die auf die einzelnen Elemente vergebenen Punktzahlen aufsummiert und auf die Summe aller vergebenen Punkte normiert. Für das in Abbildung 3.1b gezeigte Massenspektrum ergeben sich beispielsweise die in Tabelle 3.7 aufgeführten relativen Punktzahlen für die einzelnen Elemente. Daneben ist aufgezählt, wie oft das betreffende Element in den Elementkombinationen für zugeordnete Massendifferenzen vertreten war.

Die Daten zeigen, daß bei 75.9 % aller für zugeordnete Massendifferenzen vergebenen Punkte Sauerstoff mitbeteiligt war, und zwar bei insgesamt 96 Massendifferenzen. Somit kann Sauerstoff neben Wasserstoff und Kohlenstoff in der betref-

Element	Punkte	Häufigkeit
H	82.0 %	106
C	87.4 %	114
N	0.0 %	0
O	75.9 %	96
F	0.0 %	0
P	1.3 %	5
S	0.0 %	0
Cl	0.0 %	0
Br	0.0 %	0
J	0.0 %	0

Tab. 3.7 Relative Punktzahlen und Häufigkeiten der Elemente für das Massenspektrum Abb. 3.1b
($C_{10}H_{14}O_4$)

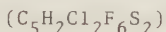
fenden Verbindung als vorhanden angesehen werden. Alle anderen Heteroelemente müssen sowohl aufgrund der Punktzahl als auch von der Häufigkeit her im Spektrum dieser Verbindung als nicht präsent betrachtet werden.

Die entsprechenden Daten für das Massenspektrum in Abb. 3.3 zeigt Tabelle 3.8. In diesem Beispiel ist die Frage nach den im Spektrum vertretenen Elementen weniger eindeutig zu beantworten als im vorhergehenden. Zwar zeigen alle tatsächlich vorhandenen Elemente eine hohe relative Punktzahl, die sie von den anderen Elementen abhebt. Es werden jedoch auch für Stickstoff und Sauerstoff Punktzahlen mit einem nennenswerten Betrag gefunden. Dies wirft die Frage auf, ab welcher relativen Punktzahl ein Element als im Spektrum vorhanden angesehen werden muß.

Zur Beantwortung dieser Frage wurde das Programm auf 100

Element	Punkte	Häufigkeit
H	23.9 %	18
C	20.6 %	14
N	8.8 %	8
O	6.8 %	5
F	60.7 %	11
P	1.0 %	2
S	17.5 %	5
Cl	22.6 %	17
Br	0.0 %	0
J	0.0 %	0

Tab. 3.8 Relative Punktzahlen und Häufigkeiten der Elemente für das Massenspektrum Abb. 3.3



hochaufgelöste Massenspektren angewandt und die relativen Punktzahlen für jedes der 10 Elemente in allen Spektren ermittelt. Anschließend wurde versucht, den Grenzwert zu finden, der die 100 Massenspektren bezüglich jedes Elements ähnlich wie bei den Pattern-recognition-Verfahren in zwei Klassen einteilt (Element vorhanden / Element nicht vorhanden). Es zeigte sich, daß für jedes Element ein gesonderter Grenzwert erforderlich ist und in einigen Fällen keine vollständige Separierung der beiden Klassen möglich ist. In den Diagrammen der Abbildungen 3.4 bis 3.8 sind die Resultate dieser Auswertung für die Elemente N, O, F, S und Cl dargestellt. Der jeweilige Grenzwert ist als gestrichelte Linie eingetragen. Falsche Zuordnungen sind mit einem Pfeil markiert. Die auf diese Weise gefundenen Grenzwerte wurden dem Programm fest eingegeben und dienen bei weiteren Anwendungen als Orientierung für die Entscheidung über das Vorhandensein eines Elements in einem unbekannten Spektrum.



Abb. 3.4 relative Punktzahlen für das Element Stickstoff
in 100 hochaufgelösten Massenspektren
+ = Element vertreten in der Verbindung
□ = Element nicht vertreten

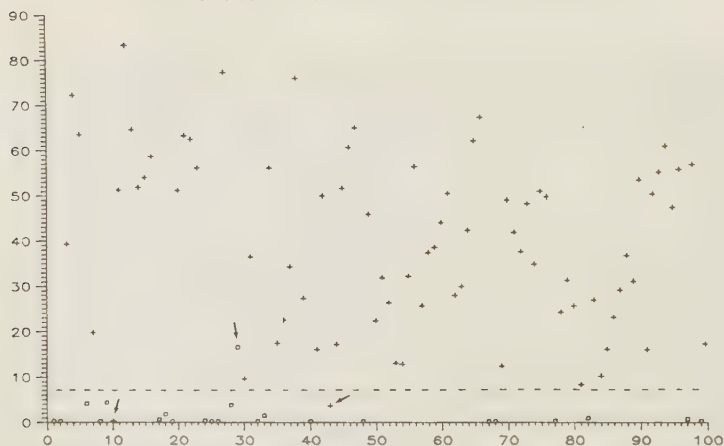


Abb. 3.5 relative Punktzahlen für das Element Sauerstoff
in 100 hochaufgelösten Massenspektren
+ = Element vertreten in der Verbindung
□ = Element nicht vertreten

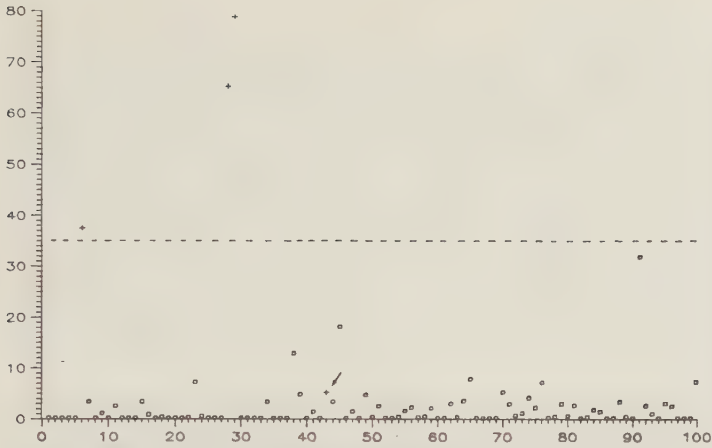


Abb. 3.6 relative Punktzahlen für das Element Fluor
in 100 hochaufgelösten Massenspektren

+ = Element vertreten in der Verbindung

□ = Element nicht vertreten

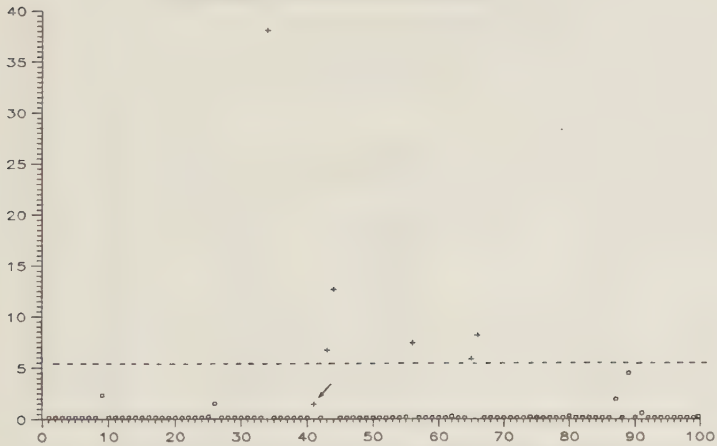


Abb. 3.7 relative Punktzahlen für das Element Schwefel
in 100 hochaufgelösten Massenspektren

+ = Element vertreten in der Verbindung

□ = Element nicht vertreten

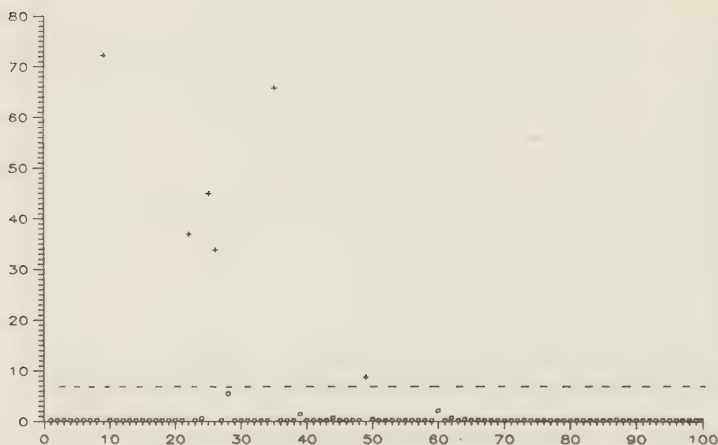


Abb. 3.8 relative Punktzahlen für das Element Chlor
in 100 hochaufgelösten Massenspektren
+ = Element vertreten in der Verbindung
□ = Element nicht vertreten

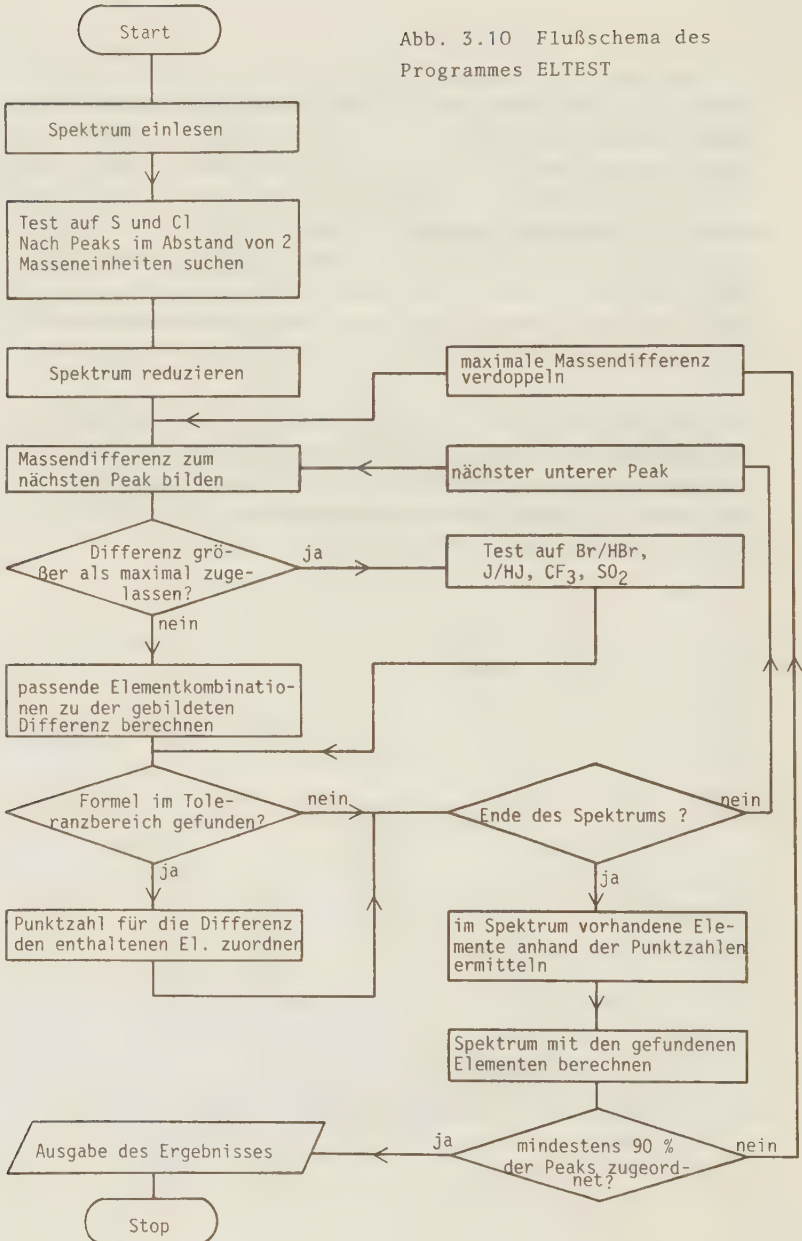
Spektrum Nr. 213		
Element	Punkte	Häufigkeit
H	23.9	18
C	20.6	14
N	8.8	8
O	6.8	5
F	60.7	11
P	1.0	2
S	17.5	5
Cl	22.6	17
Br	0.0	0
J	0.0	0
Gefundene Elemente: H , C , F , S , Cl		
=====		

Abb. 3.9 Ausdruck des Ergebnisses am Ende eines Programm-
laufs für das Massenspektrum aus Abb. 3.3
($C_5H_2Cl_2F_6S_2$)

Am Ende eines Programmlaufs wird mit den so gefundenen Elementen eine Berechnung der Peakmassen des reduzierten Spektrums durchgeführt. Stellt sich dabei heraus, daß mit den eingesetzten Elementen mehr als 10 % der Peaks nicht zugeordnet werden können, wird in einem zweiten Durchlauf die maximale zugelassene Massendifferenz verdoppelt und mit der Bildung der Massendifferenzen erneut begonnen. Wird im umgekehrten Fall festgestellt, daß ein gefundenes Element bei der Elementarberechnung des Spektrums nicht benötigt wird, wird dieses Element von der Vorschlagsliste gestrichen.

Die gefundenen Elemente werden am Ende eines Programmlaufs ausgedruckt. Abbildung 3.9 zeigt einen solchen Ausdruck, wie ihn das erstellte Programm ELTEST erzeugt. Das Schema in Abbildung 3.10 gibt einen Überblick über den programmtechnischen Ablauf.

Abb. 3.10 Flußschema des Programmes ELTEST



3.2.3 Ergebnisse in der Anwendung und Diskussion

Zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit des erstellten Programms ELTEST zur richtigen Klassifizierung bei unbekannten Spektren wurde es auf eine Sammlung von 153 hochaufgelösten Massenspektren* angewandt. Diese Spektren stammten von organischen Verbindungen verschiedenster Verbindungsklassen. Die elementaren Zusammensetzungen reichten von reinen Kohlenwasserstoffen wie $C_{16}H_{34}$ bis zu Verbindungen mit maximal 5 Heteroelementen wie $C_{15}H_{13}N_4O_2F_6S_2Br$. Die Spektren waren nicht identisch mit den 100 Spektren, an denen vorher die Laufparameter des Programms ermittelt worden waren.

Von diesen 153 Massenspektren wurde bei insgesamt 138 Spektren eine vollständig richtige Klassifizierung bezüglich aller Elemente erreicht. Bei den übrigen 15 Spektren waren zwischen 1 und 3 Elemente falsch klassifiziert. Tabelle 3.9 zeigt die Resultate aufgeschlüsselt nach den einzelnen Elementen. Da in der Spektrensammlung keine Verbindung mit Phosphor vertreten war, fehlt dieses Element in der Aufstellung.

Zur weiteren Auswertung wurden für diese Daten Bewertungsparameter berechnet, wie sie in der Literatur bei der Beurteilung von Pattern-recognition-Verfahren üblich sind. Die Klassifikationsfähigkeiten P_1 und P_2 sind definiert als die Prozentsätze der richtig klassifizierten Spektren in beiden Klassen (16, 36). Die Gesamtklassifizierungsfähigkeit P (37) faßt diese beiden Parameter zu einem einzigen Wert zusammen:

$$P = p_1 \cdot P_1 + p_2 \cdot P_2 \quad (4)$$

$$= p_1 \cdot P_1 + (1-p_1) \cdot P_2 \quad (5)$$

* An dieser Stelle möchte ich Frau Dr. E. Baranowska für den Aufbau dieser Spektrensammlung danken.

Element	Spektren mit dem Element			Spektren ohne das Element		
	Anzahl	richtig	falsch	Anzahl	richtig	falsch
N	85	80	5	68	67	1
O	123	120	3	30	28	2
F	14	11	3	139	139	0
S	35	31	4	118	117	1
Cl	10	10	0	143	142	1
Br	8	8	0	145	145	0
J	3	3	0	150	150	0

Tab. 3.9 Klassifizierung bei Anwendung des Programms auf 153 hochaufgelöste Massenspektren

Hierbei sind p_1 und p_2 die Wahrscheinlichkeiten, daß ein Spektrum zu der einen bzw. anderen Klasse gehört. Dieser Parameter P , der den mittleren Prozentsatz der richtigen Antworten darstellt, ist jedoch nur dann ein sinnvoller Bewertungsmaßstab, wenn beide Klassen annähernd gleich häufig vertreten sind, was in diesem Falle nur bei Stickstoff erfüllt ist. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.10 aufgeführt.

Insgesamt gesehen übertreffen die Resultate das, was durch Pattern-recognition-Verfahren zu erreichen ist, insbesondere, wenn man berücksichtigt, daß die vorliegende Spektrensammlung eine äußerst inhomogene Zusammensetzung hat.

Analysiert man die falsch klassifizierten Spektren im einzelnen, so lassen sich im wesentlichen drei Gründe für die Fehlresultate nennen:

Element	P ₁	P ₂	P
N	94.1 %	98.5 %	96.1 %
O	97.6 %	93.3 %	96.7 %
F	78.6 %	100.0 %	98.0 %
S	88.6 %	99.2 %	96.7 %
Cl	100.0 %	99.3 %	99.3 %
Br	100.0 %	100.0 %	100.0 %
J	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Tab. 3.10 Klassifizierungsfähigkeiten P₁, P₂, und P für die Ergebnisse aus Tabelle 3.9

1. Es treten zu wenige Massendifferenzen im Spektrum auf, in denen die Heteroelemente der Verbindung enthalten sind.
2. Ungenauigkeit in der Massenbestimmung bei der Aufnahme des Spektrums führt zu falschen Interpretationen durch das Programm.
3. Zu den Massendifferenzen im Spektrum finden sich zufällig Elementkombinationen mit Elementen, die in der Verbindung nicht enthalten sind.

Der erste Punkt wird durch das Massenspektrum in Abbildung 3.11 veranschaulicht. Das Molekölion der Verbindung, die zwei Tosyl-Gruppen enthält, ist nicht im Spektrum vertreten. Die erste im Spektrum zu beobachtende Fragmentierung (m/z 306 $\rightarrow$ m/z 151) beinhaltet die Abspaltung der zweiten Tosyl-Gruppe. Der verbleibende Rest des Moleküls enthält weder

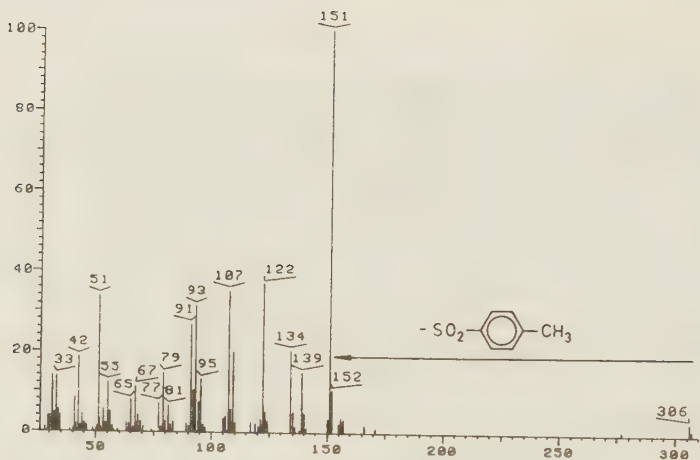
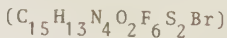


Abb. 3.11 Massenspektrum der Verbindung III



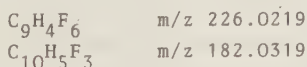
Abb. 3.12 Massenspektrum der Verbindung IV



Sauerstoff noch Schwefel. Da diese Massendifferenz außerhalb des Bereichs liegt, der von dem Programm betrachtet wird und die Folgeionen der Tosyl-Gruppe im Spektrum zurücktreten, werden Sauerstoff und Schwefel in diesem Spektrum vom Programm nicht erkannt. Dagegen zeigt Abbildung 3.12 ein typisches Spektrum (eine Verbindung mit der Zusammensetzung $C_{15}H_{13}N_4O_2F_6S_2Br$), bei dem gute Resultate bei der Klassifizierung durch das Programm zu erwarten sind. Hier ist das Molekülion sehr intensiv und in den Folgeionen treten die einzelnen Heteroelemente als Massendifferenzen nacheinander auf.

Zur Untersuchung des zweiten Punktes wurden anstelle der falsch klassifizierten Spektren synthetische Massenspektren verwendet, bei denen die gemessenen Massen durch die theoretischen ersetzt waren. Bei einem anschließenden Programmlauf wurden von den vorher 15 falsch klassifizierten Spektren nun weitere 4 Spektren richtig zugeordnet. Die Genauigkeit der Massenbestimmung hat daher ebenfalls einen Einfluß auf die zu erwartenden Resultate des Testverfahrens. Bei der vorliegenden Spektrensammlung lag die mittlere Abweichung über das gesamte Spektrum bei ca. 1 - 1.5 mmu.

Der dritte Punkt soll an einem weiteren Beispiel erläutert werden. Im Spektrum einer Verbindung, die H, C und F enthält, treten die beiden folgenden, intensiven Ionen auf:



Die Massendifferenz beträgt 43.9900. Sie stellt in diesem Falle jedoch keine richtige Abspaltung dar, da beide Ionen aus verschiedenen Fragmentierungszweigen stammen. Zu dieser Massendifferenz berechnet das Programm jedoch als mögliche elementare Zusammensetzung CO_2 mit einer Abweichung von 0.2 mmu. Hierdurch wird Sauerstoff fälschlicherweise als

vorhanden erkannt. Solche zufälligen Koinzidenzen wurden zwar in einer ganzen Reihe von Spektren beobachtet. Durch das Bewertungssystem des Programmes, das nur solche Elemente zuläßt, die in einer größeren Anzahl von Massendifferenzen im Spektrum gefunden wurden, werden solche Fehlinterpretationen jedoch in der Regel unterdrückt.

3.3 Zuordnung der Massen des Spektrums

Die hochauflösende Massenspektrometrie kann routinemäßig nur dann sinnvoll eingesetzt werden, wenn für die Auswertung der Spektren geeignete Computerprogramme vorhanden sind. Bestehende Programme, wie sie von den Herstellern von Massenspektrometrie-Datensystemen mitgeliefert werden, erfüllen die Anforderung in der Praxis oft nur unzureichend. Hauptpunkt der Kritik ist die zu geringe Reduktion der Daten, die auf die unvollständige Ausnutzung der Informationen, die in dem hochaufgelösten Massenspektrum enthalten sind, zurückzuführen ist. Bei der Entwicklung eines eigenen Programms für die Berechnung der Elementarzusammensetzungen der beobachteten Peaks in einem Spektrum lag das Augenmerk auf den folgenden Punkten:

1. Da die Berechnung aller möglichen Elementkombinationen selbst durch einen Computer sehr zeitaufwendig ist, sollte ein schneller Algorithmus für diese Aufgabe angewendet werden.
2. Elementkombinationen, die aufgrund von Valenzbetrachtungen und Fragmentierungsregeln keine sinnvollen Ionen darstellen, sollten bereits durch das Programm weitgehend unterdrückt werden.
3. Das Isotopenmuster im Umfeld eines Ions im Spektrum sollte in die Auswertung miteinbezogen werden.
4. Die Möglichkeiten einer über die Berechnung der Elementarkombinationen hinausgehende Auswertung sollte untersucht werden. Hierbei war vor allem an eine automatische Identifizierung des Molekülions anhand des Fragmentierungsverlaufs gedacht.

3.3.1 Algorithmus zur Ermittlung der elementaren Zusammensetzung

Die Aufgabe, einer gegebenen Masse eine Elementarzusammensetzung zuzuordnen, läßt sich auf das kombinatorische Problem zurückführen, mit den vorgegebenen Elementen alle möglichen Formeln zu bilden, deren Massen zu berechnen und zu prüfen, ob sie (innerhalb eines bestimmten Toleranzbereiches) mit der gesuchten Masse übereinstimmen.

Werden beispielsweise die Elemente C (20), H (20), N (2), O (4), und S (2) (mit den entsprechenden Obergrenzen für die Zahl der Atome) zur Berechnung eines Spektrums zugelassen, sind

$$(20+1) \cdot (20+1) \cdot (2+1) \cdot (4+1) \cdot (2+1) = 19845$$

Kombinationen zu bilden, wobei auch die Formeln berücksichtigt sind, in denen ein oder mehrere Elemente nicht vertreten sind, jedoch noch keine Isotopen. Der Zeitaufwand für derartige Berechnungen durch einen Computer steigt mit der Zahl der zugelassenen Elemente, ihren Obergrenzen und mit der Masse des zu berechnenden Peaks (siehe auch Tabelle 3.2) und kann bei Massen über 1000 und entsprechend vielen Elementen die Größenordnung von Minuten und Stunden erreichen.

Aus diesem Grunde sollte der Algorithmus so aufgebaut sein, daß für jede neue Elementkombination möglichst wenige Rechenoperationen erforderlich sind und eine schnelle Programmausführung erreicht werden kann. In dem von uns erstellten Programm ELCOM für die Berechnung hochaufgelöster Massenspektren wurden deshalb eine Reihe von Maßnahmen ergriffen, um zum einen die Zahl der Kombinationsmöglichkeiten

der Elemente von vornherein zu begrenzen und zum anderen mit möglichst wenigen Rechenoperationen für jede neue Elementkombination auszukommen.

1. Die Reihenfolge, in der die Beiträge der einzelnen Elemente und Isotopen zu der zu berechnenden Masse aufaddiert werden, beginnt beim schwersten Element und endet beim leichtesten (in der Regel Wasserstoff). Für das obige Beispiel mit C, H, N, O und S beginnt die Rechnung beim Schwefel mit S_0 , danach wird der Beitrag von Sauerstoff zu der zu bildenden Masse von O_0 bis O_4 variiert, für jeden dieser Beiträge wird wiederum der Beitrag von Stickstoff von N_0 bis N_2 variiert, usw. Erst wenn auf diese Weise alle Elementkombinationen ohne Schwefel durchprobiert worden sind, wird der Formelindex von Schwefel auf S_1 erhöht. Stellt sich nun heraus, daß die Zwischensumme der Beiträge der schwereren Elemente die Masse des zu berechnenden Peaks bereits überschreitet, kann die Rechnung an dieser Stelle abgebrochen werden.
2. Durch die Bildung von Zwischensummen bei der Massenberechnung wird vermieden, daß für jede neue Elementkombination die Masse vollständig neu berechnet werden muß. Für die Hinzunahme eines weiteren Atoms eines Elements genügt eine Addition.
3. Die Isotope eines Elements werden wie getrennte Elemente behandelt. Bei Isotopen mit einer relativen Häufigkeit unter 10 % (z. B. ^{13}C mit 1.1 %) wird die Obergrenze eingeschränkt, indem überschlagsmäßig berechnet wird, wieviele Atome bei der gegebenen Masse und Intensität des Peaks in der Formel enthalten sein können. So kann ein Peak der Masse 100 und mit einer Intensität von 5 % höchstens ein ^{13}C -Atom enthalten, da insgesamt maximal 8 Kohlenstoffatome vorkommen können und die relative Häufigkeit der Isotopenkombination $^{12}\text{C}_5\text{ }^{13}\text{C}_2$ nur noch 0.4 %

beträgt.

4. Bei allen Verbindungen, die Kohlenstoff und Wasserstoff enthalten, wird eine bedeutende Beschleunigung erreicht, indem entsprechend einem Vorschlag von Dromey und Foyster (38) der Massendefekt (dies ist die Differenz zwischen der exakten und der nominellen Masse) zur Ermittlung der Anzahl der Atome dieser Elemente herangezogen wird. Hierauf wird im folgenden näher eingegangen.

Das Verfahren beruht darauf, daß die Atommasse von Kohlenstoff- ^{12}C definitionsgemäß exakt 12.0 beträgt und demnach keinen Beitrag zu einem Massendefekt in einer Verbindung liefert. Der Massenanteil, den Kohlenstoff und Wasserstoff zu einer Masse beitragen, wird zuletzt berechnet, wenn alle anderen Elemente bereits eingesetzt sind. Eine Differenz in den Massendefekten zwischen der zu berechnenden Masse D_0 und der Zwischensumme D_3

$$D_D = D_0 - D_3 \quad (6)$$

kann dann nur noch vom Wasserstoff herrühren. Die Zahl der Wasserstoffatome ergibt sich durch Division durch den Massendefekt von Wasserstoff $D_H = 0.007825 \text{ mu.}$

$$n_H = D_D / D_H \quad (7)$$

Die Kohlenstoffzahl erhält man aus der verbleibenden Differenz von Peakmasse und Zwischensumme mit hinzuaddiertem Wasserstoffanteil.

Hierdurch fallen zwei Elemente aus den kombinatorischen Rechnungen heraus, die durch ihre niedrigen Massen ansonsten zu einem besonders starken Anstieg der Zahl der Kombinationen führen würden.

Das Verfahren von Dromey und Foyster hat jedoch zwei Einschränkungen, auf die von den Autoren nicht hingewiesen wurde. Zum einen müssen die Massen im Spektrum auf einem Wert von $D_H/2 = 3.9$ mmu genau sein, damit die Berechnung der Wasserstoffzahl zum richtigen Ergebnis führt. In dem hier beschriebenen Programm ist dieses Verfahren deshalb leicht modifiziert, um es auch bei größeren Massenabweichungen verwenden zu können. Es wird zunächst nur die ungefähre Zahl der Wasserstoffatome aus dem Massendefekt ermittelt. Anschließend wird die Elementzahl des Kohlenstoffs aus der verbleibenden Restmasse berechnet. Dieser Wert wird erst dann falsch, wenn die vorher berechnete Anzahl der Wasserstoffe um mehr als 5 vom richtigen Wert abweicht. Die endgültige Elementzahl des Wasserstoffs wird dann aus der neuen Restmasse errechnet, die den Beitrag des Kohlenstoffs enthält:

$$n_H \approx D_D / D_H \quad (8)$$

$$n_C = (m_0 - m_3 - n_H \cdot M_H) / M_C \quad (9)$$

$$n_H = (m_0 - m_3 - n_C \cdot M_C) / M_H \quad (10)$$

m_0 : gemessene Masse

m_3 : Zwischensumme bei der Massenberechnung ohne ^{12}C und ^1H

M_H, M_C : Atommassen

Dies erlaubt eine größere Toleranz bei den gemessenen Massen von

$$T_m = 1/2 \cdot M_C / M_H \cdot D_H = 46 \text{ mmu.} \quad (11)$$

Die zweite Einschränkung besteht darin, daß das ursprüngliche Verfahren nur eine maximale Wasserstoffanzahl von

$$N_H = 1 \text{ mmu} / D_H = 127 \quad (12)$$

erlaubt. Sollen größere Obergrenzen für Wasserstoff möglich sein, so müssen in einer zusätzlichen Programmschleife auch die Massendefekte D_D+1 , D_D+2 , ... usw. geprüft werden, bis

die vorgegebene Maximalzahl für Wasserstoff erreicht ist.

Selbst mit diesen beiden Erweiterungen wird eine bedeutende Beschleunigung der Programmausführung erreicht. So betrug die Zeit für die Berechnung eines Peaks der Masse 537.9562 mit den Elementen C, H, N, O, Br, F und S (einschließlich der Isotope für Kohlenstoff, Schwefel und Brom) 8.0 s gegenüber 33.5 s ohne die Variante des Dromey/Foyster-Verfahrens. Die Beschleunigung erklärt sich aus dem Fortfall der Programmschleife für Kohlenstoff- ^{12}C , so daß nur 10080 Elementkombinationen gebildet werden mußten anstelle von 26787.

Abbildung 3.12 zeigt ein vereinfachtes Flußschema des verwendeten Algorithmus für die Berechnung eines Peaks mit der Masse m_0 .

Der Algorithmus besteht aus n ineinander verschachtelten Schleifen für n Elemente bzw. Isotope. Bei jedem Schleifendurchlauf wird der Beitrag des betreffenden Elements zu der zu berechnenden Masse um die Atommasse (M_i) dieses Elements erhöht, sodaß jeweils nur eine Addition durchzuführen ist. Die Zahl der Durchläufe der Schleife und damit die maximale Zahl der Atome eines Elements N_i wird vor dem ersten Passieren der Schleife dynamisch angepaßt. Für das Element auf der äußersten Schleife ergibt sie sich aus dem Quotienten aus der zu berechnenden Masse und der Atommasse (m_0/M_i). Bei den inneren Schleifen wird die Obergrenze aus der Differenz der Masse zu der bis dahin aufsummierten Zwischensumme ($m_0 - m_{i+1}$), dividiert durch die Atommasse des betreffenden Elements, berechnet. Die Zahl der Durchläufe auf den inneren Schleifen verringert sich demnach mit dem steigenden Beitrag, den die Elemente auf den äußeren Schleifen zu der aufsummierten Zwischensumme liefern.

Nicht dargestellt im Diagramm ist die Prüfung bei jedem Element bzw. Isotop, ob die vom Anwender vorgegebene Obergrenze

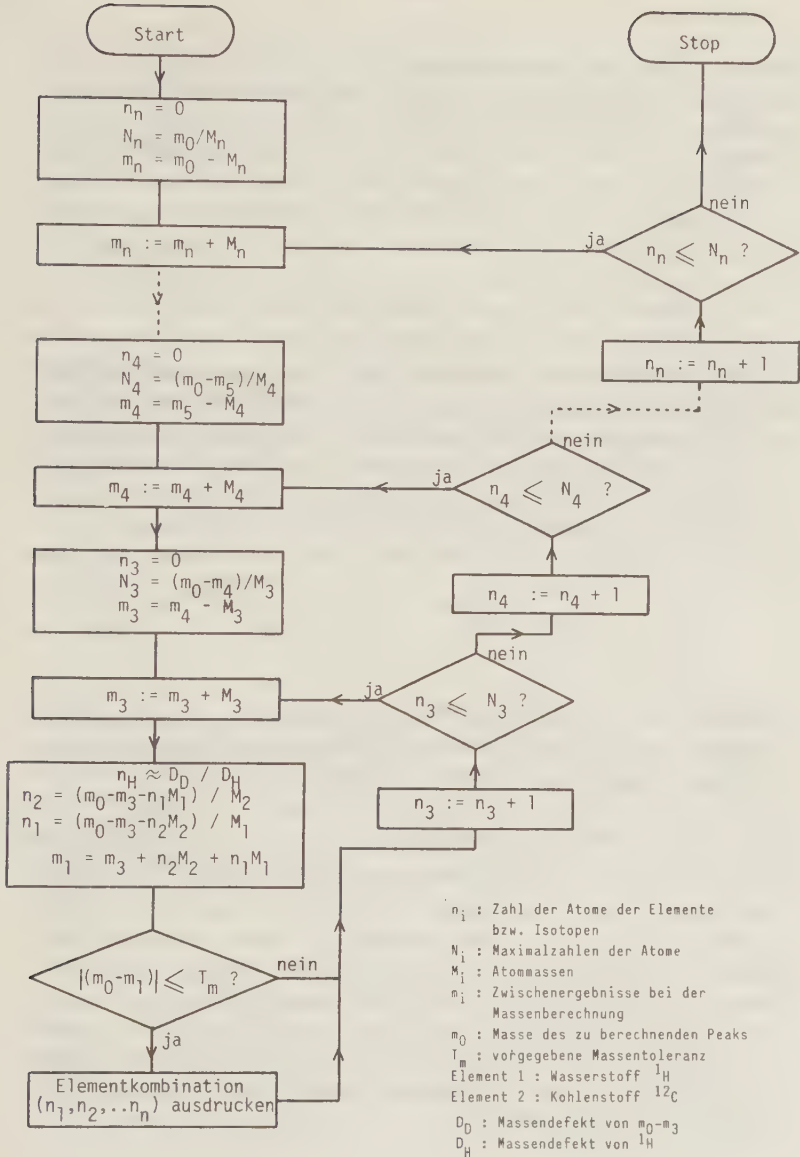


Abb. 3.12 Flußschema der Massenberechnung

für die Zahl der Atome überschritten wird, und ob die zu erwartende relative Intensität einer bestimmten Isotopenkombination geringer ist als die des betrachteten Peaks.

3.3.2 Eliminierung chemisch nicht sinnvoller Formeln

Die Bewertung, ob eine Elementkombination ein chemisch sinnvolles Ion darstellt, geschieht über eine Betrachtung der Valenzen der enthaltenen Elemente. Die Zahl der Doppelbindungsäquivalente (DB), die die Zahl der Mehrfachbindungen und Ringe in der Struktur des Ions darstellt, läßt sich nach der Gleichung (13) berechnen:

$$DB = \frac{\sum_{i=1}^i n_i \cdot (V_i - 2)}{2} + 1 \quad (13)$$

Hierbei ist V_i die Valenz des betreffenden Elements. Die Elemente Stickstoff und Phosphor, die verschiedene Valenzen annehmen können, werden mit $V_i = 3$ eingesetzt.

Für Ionen mit ungerader Elektronenzahl, wie z. B. Molekülionen, ergibt die Anwendung der obigen Formel positive, ganzzahlige Werte; gesättigte Strukturen, wie z. B. C_2H_6 , ergeben den Wert 0. Summenformeln, die übersättigte Strukturen darstellen (wie z. B. C_5H_{13}) liefern negative Zahlenwerte. Sie können auf diese Weise leicht erkannt und eliminiert werden. Schwieriger ist die Eliminierung von Formeln mit starker Untersättigung, da es hier keine allgemein gültige Regel für die zu ziehende Grenze gibt. Von Kavanagh (39) wird die Gleichung

$$DB_{\max} = 1 + m/12 \quad (14)$$

für die maximale Zahl der Doppelbindungsäquivalente angegeben, wobei m die Masse des Ions ist. Der Ansatz versagt jedoch bereits bei einfachen Summenformeln, wie z. B. $C_{20}H_2$ ($DB=20$), die durch diese Gleichung nicht ausgeschlossen werden ($DB_{\max}=21$).

Da sich in der Literatur wenige Hinweise zur Lösung dieses Problems finden, wurde ein empirischer Ansatz gewählt, der bei Anwendung auf ca. 250 hochaufgelöste Massenspektren nicht zu Beschneidungen bei Ionen in typischen organischen Verbindungen führte, und andererseits eine weitgehende Eliminierung von chemisch unwahrscheinlichen Formeln bewirkt. Bei Elementkombinationen, die nur vier- und einwertige Elemente enthalten (C, Si, H, F, Cl, Br, J usw.) wird die folgende Gleichung zur Ermittlung der maximal möglichen Unersättigung angewandt:

$$DB_{\max} = 0.75 \cdot n_C + 1 \quad (15)$$

Hierbei ist n_C die Zahl der Kohlenstoffatome (und anderer vierwertiger Elemente). Bei Verbindungen, die daneben auch zwei- und dreiwertige Elemente enthalten (N, O, P usw.), muß eine größere Zahl ungesättigter Strukturelemente zugelassen werden, damit es z. B. bei Carbonylverbindungen und Nitrilen nicht zu falschen Interpretationen kommt. Hier hat sich der Ansatz

$$DB_{\max} = 0.8 \cdot n_C + 0.25 \cdot n_N + 0.25 \cdot n_O + 1 \quad (16)$$

bewährt, wobei n_N und n_O die Zahl der Stickstoff- und Sauerstoffatome bedeuten. Beim Vorhandensein weiterer zwei- und dreiwertiger Elemente werden diese ebenfalls mitberücksichtigt. Summenformeln, die einen nicht mehr sinnvollen hohen Anteil an Sauerstoff und Stickstoff enthalten, fallen bei

diesen Betrachtungen jedoch nicht immer heraus. Deshalb gelten bei Anwesenheit von Heteroelementen zusätzliche Bedingungen: Die Zahl der Stickstoffatome (und anderer dreiwertiger Elemente) darf die Zahl der C-Atome um nicht mehr als 2 überschreiten. Für die maximale Zahl der zweiwertigen Elemente gilt der folgende Grenzwert:

$$n_0 = 1 \frac{1}{3} n_C + \frac{1}{3} n_N + 2 \quad (17)$$

In der nachfolgenden Tabelle sind als Beispiele Summenformeln mit ihren zugehörigen Doppelbindungsäquivalenten und den Grenzwerten angeführt, die durch das Programm anhand der aufgeführten Regeln anerkannt bzw. verworfen werden.

Formel	DB	DB _{max}	Gültigkeit
C ₁₀ H ₂₂	0.0	8.5	+
C ₁₀ H ₂₃	-0.5	8.5	-
C ₂₀ H ₁₀	16.0	16.0	+
C ₂₀ H ₉	16.5	16.0	-
C ₁₀ H ₁₅ O ₁₅	6.0	12.75	+
C ₁₀ H ₁₅ O ₁₆	6.0	13.0	-
C ₅ H ₁₀ N ₇	4.5	6.75	+
C ₅ H ₁₀ N ₈	5.0	7.0	-

Tab. 3.11 gültige (+) und nichtgültige (-) Formeln bei Anwendung der im Text erläuterten Valenzbetrachtungen

3.3.3 Isotopenpatternvergleich

Die Intensitätsverteilung im Umfeld eines Peaks liefert Anhaltspunkte für die Beurteilung der Wahrscheinlichkeit, mit der eine berechnete Elementarzusammensetzung diesem Peak zuzuordnen ist. Ein Vergleich der im Spektrum gefundenen Intensitäten mit dem zu erwartenden Isotopenpattern kann dazu führen, daß eine Elementkombination eindeutig ausgeschlossen werden kann. Dies ist z. B. der Fall, wenn zu einem Isotopenpeak mit geringer relativer Häufigkeit der entsprechende Hauptpeak fehlt. In anderen Fällen kann durch den Vergleich aus mehreren möglichen Formeln die wahrscheinlichste ermittelt werden.

Die zu erwartende relative Häufigkeit eines Ions der Masse m mit einer bestimmten Isotopenkombination läßt sich nach der Gleichung 18 (40, 41) berechnen:

$$P_m = \prod_{i=1}^K N_i! \prod_{j=1}^{L_i} \frac{q_{ij}^{n_{ij}}}{n_{ij}!} \quad (18)$$

Hierbei ist K die Zahl der Elemente, L_i die Zahl der Isotope des Elementes i . N_i ist die Gesamtzahl der Atome des Elements i , n_{ij} die Zahl der Atome des j . Isotops von i ; q_{ij} bedeutet die relative natürliche Häufigkeit des Isotops. Die Massenzahl, bei der dieses Ion im Spektrum auftritt, errechnet sich nach

$$m = \sum_{i=1}^K \sum_{j=1}^{L_i} n_{ij} \cdot a_{ij} \quad (19)$$

mit a_{ij} = Atommasse des Isotops. Für die Berechnung des gesamten Isotopenmusters müssen die stöchiometrischen Indizes n_{ij} von 0 bis N_i variiert werden, wobei stets gelten muß:

$$\sum_{j=1}^{L_i} n_{ij} = N_i \quad (20)$$

Finden sich mehrere Elemente mit Isotopen in einer Formel, kommt es zu Überlagerung der Signale, wenn die Massen verschiedener Isotopenkombinationen nominell gleich sind. Die Beiträge der einzelnen Spezies werden dann zu der relativen Intensität bei dieser Masse aufaddiert.

Für den Vergleich zwischen gemessenem und berechnetem Isotopenpattern wird ein Normierungsfaktor f_N berechnet:

$$f_N = \frac{I_{m_0}}{P_{m_0}} \quad (21)$$

Hierbei ist I_{m_0} die Intensität der betrachteten Isotopenkombination mit der Masse m_0 im Spektrum und P_{m_0} die berechnete relative Häufigkeit bei derselben Masse. Der Vergleich wird nach der Gleichung 22 vorgenommen, in der I_m die Intensität im Spektrum bei der Masse m bedeutet, $f_N \cdot P_m$ für die die entsprechende erwartete Intensität steht und m_+ und m_- die Massenbereichsgrenzen sind, innerhalb derer der Vergleich durchgeführt wird.

$$F_{IP} = \frac{\left[\sum_{m=m_-}^{m_+} \left(\frac{f_N \cdot P_m}{I_m} \right)^k \right] - 1}{m_+ - m_-} \quad (22)$$

mit $k = +1$ für $I_m > f_N \cdot P_m$
und $k = -1$ für $I_m \leq f_N \cdot P_m$

Der Exponent k mit den Werten ± 1 bewirkt, daß die Verhältnisbildung zwischen berechneter und gemessener Intensität stets einen Wert zwischen 0 und 1 liefert. Da vorher auf den Peak an der Stelle m_0 normiert wurde und das Verhältnis

an dieser Stelle zwangsläufig den Wert 1 annimmt, wird dieser Betrag von der gebildeten Summe der Intensitätsverhältnisse abgezogen.

Bei diesem Isotopenpatternvergleich gelten zwei Nebenbedingungen:

1. Ist der Peak im Spektrum mehr als viermal größer als berechnet, oder fehlt im berechneten Spektrum ein Peak an der betreffenden Stelle, wird diese Masse bei dem Vergleich ausgelassen, da eine Überlagerung durch andere Fragmentierungen wahrscheinlich ist.
2. Fehlt im Spektrum ein Peak an einer Stelle, an der sich nach dem berechneten Isotopenmuster ein Signal befinden sollte, wird nach zwei Fällen unterschieden:
 - a) Die berechnete Intensität des fehlenden Isotopenpeaks ist größer als die gemessene des Peaks an der Stelle m_0 , dem Ausgangspunkt des Vergleichs:

Der Vergleichsindex F_{IP} wird unabhängig von der Berechnung auf 0.0 gesetzt, wodurch die betreffende Elementkombination verworfen wird. Dieser Fall ist in der Abbildung 3.13 wiedergegeben, wo zu dem gemessenen Isotopenpattern (a) das berechnete für $C_{10}H_{12}Cl_2$ (b) und für $C_{13}H_9^{37}Cl$ (c) dargestellt ist. Beide Formeln liegen bei der Berechnung der Massenzahl 202 im Toleranzbereich. Beim Vergleich von c) mit dem gemessenen Isotopenpattern fehlt der für die Masse 200 zu erwartende ^{35}Cl -Peak. Hierdurch kann c) ausgeschlossen werden.

Durch diese Bedingung werden etwa 50 % aller Elementkombinationen im Toleranzbereich verworfen. In den meisten Fällen handelt es sich dann um eine Formel mit einem ^{13}C -Isotop, die wegen des geringen Massenunter-

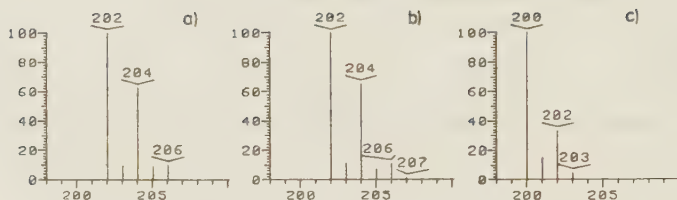


Abb. 3.13 Gemessenes Isotopenmuster für $C_{10}H_{12}Cl_2$ (a), berechnet für $C_{10}H_{12}Cl_2$ (b) und berechnet für $C_{13}H_9Cl$ (c)

schiedes zu einem ^{12}CH -Fragment bei der Massenberechnung ebenfalls im Toleranzbereich liegt.

- b) Die berechnete Intensität ist kleiner als die an der Stelle m_0 :

Hierbei muß berücksichtigt werden, daß besonders im hochaufgelösten Massenspektrum die erfaßte Dynamik meist nicht sehr groß ist und somit kleinere Isotopenpeaks häufig nicht registriert werden. Die erwartete Intensität wird daher mit dem Mittelwert der Intensitäten der fünf schwächsten Peaks im gesamten Spektrum verglichen. Ist die berechnete Intensität kleiner als dieser Wert, wird die betreffende Masse bei der Berechnung außer acht gelassen.

Das Ergebnis des Isotopenpatternvergleichs ist der Index F_{IP} mit einem Wert zwischen 0 und 1, der den Grad der Übereinstimmung zwischen gemessenen und berechneten Intensitäten ausdrückt. Dieser Index wird vom Programm jedoch nicht ausgedruckt, sondern der Übersichtlichkeit halber zusammen mit der Massenabweichung der geprüften Elementkombination zu

einem einheitlichen Index F_G zusammengefaßt. Der Index für die Massenabweichung berechnet sich nach der Gleichung 23

$$F_{MD} = 1 - \frac{|d_m|}{T_m} \quad (23)$$

mit d_m = Massenabweichung und T_m = zugelassene Toleranz. Der Gesamtindex, der alle gemessenen Daten zusammenfaßt, wird bei Peaks mit einer relativen Intensität größer als 1 % nach Gleichung 24 berechnet, die das Isotopenpattern doppelt gewichtet.

$$F_G = \frac{2 F_{IP} + F_{MD}}{3} \quad (24)$$

Bei Ionen unter 1 % wird wegen der größeren Standardabweichung bei der Intensitätsbestimmung das Isotopenpattern nur einfach gewichtet.

Abbildung 3.14 zeigt einen Originalausdruck des Programms ELCOM für den Molekülionenbereich der Verbindung V (Summenformel $C_9H_{12}O_4$). An diesem Beispiel wird der Nutzen des Isotopenpatternvergleichs deutlich. Der Bewertungsindex für die richtige Elementarzusammensetzung (mit * gekennzeichnet) ist wegen der besseren Übereinstimmung im Isotopenmuster am höchsten, obwohl von der Massenabweichung her die Formel $C_{10}H_8N_4$ (mit o gekennzeichnet) wahrscheinlicher wäre. Das gemessene und die berechneten Isotopenpattern der beiden Formeln sind in Tabelle 3.12 aufgeführt. Tabelle 3.13 zeigt die daraus resultierenden Bewertungsindizes.

INTENSITAET	MASSE (MU)	DIFFERENZ (MMU)	INDEX	FORMEL
85.54%	184.0749	-1.3	0.89	C9/0 H12 O4 *)
		0.0	0.79	C10/0 H8 N4 o)
		1.4	0.76	C12/0 H10 N1 O1
		-2.6	0.68	C7/0 H10 N3 O3
9.05%	185.0790	-2.1	0.83	C8/1 H12 O4 *)
		0.6	0.75	C11/1 H10 N1 O1
		3.7	0.74	C10/0 H9 N4
		1.0	0.73	C7/0 H11 N3 O3
		-0.3	0.72	C5/0 H9 N6 O2
		-0.8	0.71	C9/1 H8 N4 o)
		2.4	0.68	C9/0 H13 O4
1.19%	186.0787	-3.4	0.66	C6/1 H10 N3 O3
		1.6	0.85	C7/2 H12 O4 *)
		0.2	0.82	C5/2 H10 N3 O3
		-3.9	0.75	C10/1 H9 N2 O1
		-2.5	0.67	C2/2 H12 N2 O6
		-1.1	0.63	C3/2 H8 N6 O2
MITTLERE MASSENABWEICHUNG: 1.7 MMU				
ZAHL DER PEAKS OHNE ZUORDNUNG: 0				

Abb. 3.14 Gesamtindex für mögliche Isotopenkombinationen
im Massenbereich 184-186 der Verbindung V
($C_9H_{12}O_4$)

m/z	gemessene Intensität	berechnetes Isotopenpattern	
		für $C_9H_{12}O_4$	für $C_{10}H_8N_4$
184	100.00 %	100.00 %	100.00 %
185	10.58 %	10.43 %	12.83 %
186	1.39 %	1.31 %	0.76 %
187	-	0.10 %	0.03 %

Tab. 3.12 Vergleich der im Spektrum gefundenen Intensitäten mit den berechneten von $C_9H_{12}O_4$ und $C_{10}H_8N_4$

Formel	Massenab- weichung	Isotopenpattern- Index	Gesamt- Index
$C_9H_{12}O_4$	-1.3 mmu	0.96	0.89
$C_{10}H_8N_4$	0.0 mmu	0.69	0.79

Tab. 3.13 Bewertungsindizes für $C_9H_{12}O_4$ und $C_{10}H_8N_4$

3.3.4 Identifizierung des Molekülions

Für eine weitgehend automatisierte Interpretation bietet sich das hochaufgelöste Massenspektrum eher an als das niederaufgelöste, da sich die Auswertung nicht mehr auf die Massen von Ionen stützt, sondern nach der Berechnung des Spektrums auf deren Elementarzusammensetzungen. Im Gegensatz zu Ansätzen, die auf eine vollständige Interpretation mit Ermittlung der Verbindungsklasse und der Struktur abzielen, läßt sich eine automatische Identifizierung des Molekülions mit vergleichsweise geringem programmtechnischen Aufwand verwirklichen. Von Nutzen ist eine solche Molekülionensuche insbesondere, wenn die Hochauflösungsmassenspektrometrie anstelle einer Elementaranalyse zur Ermittlung der Summenformel einer Verbindung eingesetzt wird. Hier ergibt sich eine zusätzliche Absicherung, wenn die vermutete Elementarzusammensetzung durch eine automatische Prüfung des Fragmentierungsverlaufs bestätigt wird.

Die Kriterien, die ein Ion im Spektrum erfüllen muß, damit es als Molekülion in Frage kommen soll, wurden bereits von Biemann und McMurray (42) genannt:

1. Das Ion darf nur aus den häufigsten Isotopen jedes Elements bestehen.
2. Das Ion muß eine ungerade Anzahl von Elektronen haben. (Die Forderungen, daß die Masse des Ions geradzahlig sein muß bei gerader Anzahl von Stickstoffatomen oder daß die Zahl der Doppelbindungsäquivalente ganzzahlig oder gleich Null sein muß, besagen dasselbe).
3. Die Primärfragmentierungen des Molekülions müssen chemisch sinnvoll sein.

Dagegen gilt das häufig genannte Kriterium, daß die höchste Masse im Spektrum (abgesehen von Isotopenpeaks) dem Molekülion entspricht, nur wenn

- a) Verunreinigungen der Substanz auszuschließen sind
- b) die Intensität des Molekülions groß genug ist, um vom Massenspektrometer registriert zu werden.

Ausgehend von den genannten Punkten wurde dem Programm ELCOM ein Programmteil zur automatischen Identifizierung des Molekülions angefügt, bei dem auch berücksichtigt wurde, daß das Molekülion nicht im Spektrum enthalten ist. Das Vorgehen bei der Molekülionsuche wird im folgenden erläutert.

Alle Elementkombinationen, die bei der Berechnung des Spektrums ermittelt wurden und die nur die häufigsten Isotope jedes Elements (monoisotopische Formeln) enthalten, werden programmintern gespeichert. Für jede dieser Formeln wird eine Bewertungszahl errechnet. Die Intensität des zugrundeliegenden Peaks wird dabei mit 0 bis 3 Punkten bewertet. Die Elementkombinationen, die den jeweils höchsten Bewertungsindex bei der Berechnung eines Peaks erhielten (aus Massenabweichung und Isotopenpatternvergleich), erhalten zusätzlich zwei Punkte. Für jeden Isotopenpeak, der die vorangehende Formel bestätigt, wird ebenfalls ein weiterer Punkt hinzuaddiert. Tabelle 3.14 zeigt für das hochaufgelöste Spektrum von 3,4,5-Trimethoxyanilin ($C_9H_{13}NO_3$) einen Ausschnitt der gespeicherten Daten aus dem oberen Massenbereich. Die aufgrund der ganzzahligen Doppelbindungsäquivalente als Molekülionen in Frage kommenden Ionen sind dabei mit "*" gekennzeichnet.

Für jedes dieser potentiellen Molekülionen im oberen Massenbereich werden die möglichen Fragmentierungen zu den im Spektrum tiefer stehenden Peaks berechnet. Dies ist in der

m/z	Intensität	Formel	Punkte	
137.0474	1.1 %	$C_7H_7NO_2^*$ $C_5H_5N_4O$ $C_4H_9O_5$ $C_2H_7N_3O_4^*$	4 2 2 2	← $-C_2H_6O$
140.0728	13.3 %	$C_7H_{10}NO_2$ $C_5H_8N_4O^*$	6 4	← $-C_2H_3O$
155.0689	0.6 %	$C_6H_9N_3O_2^*$ $C_4H_7N_6O$ $C_8H_{11}O_3$	3 1 1	← $-H_2CN$ ← $-CH_4$
167.0589	2.3 %	$C_8H_9NO_3^*$ $C_{11}H_7N_2$ $C_6H_7N_4O_2$ $C_5H_{11}O_6$	4 2 2 2	← $-CH_3$
168.0566	100.0 %	$C_8H_{10}NO_3$ $C_6H_8N_4O_2^*$ $C_5H_{12}O_6^*$ $C_{11}H_8N_2^*$ $C_3H_{10}N_3O_5$	7 5 4 4 4	← $-H$
182.0813	3.6 %	$C_9H_{12}NO_3$ $C_7H_{10}N_4O_2^*$ $C_6H_{14}O_6^*$ $C_5H_8N_7O$ $C_{12}H_{10}N_2^*$ $C_4H_{12}N_3O_5$	4 2 2 2 2 2	
183.0889	63.9 %	$C_9H_{13}NO_3^*$ $C_7H_{11}N_4O_2$ $C_{12}H_{11}N_2$ $C_4H_{13}N_3O_5^*$ $C_5H_9N_7O^*$	7 5 5 3 4	

Tab. 3.14 Programmintern gespeicherte Daten bei der Identifizierung des Moleküliöns; Erläuterungen im Text

Tabelle 3.14 für das tatsächliche Molekülion ($C_9H_{13}NO_3$) angedeutet. Die gefundenen Abspaltungen werden mit einer programminternen Liste verglichen, die die Formeln von Fragmentationen enthält, die gewöhnlich aus Molekülionen abgespalten werden. Jede in der Tabelle gefundene Abspaltung wird mit 5 Punkten bewertet, zuzüglich der Bewertungszahl des Fragmentations. Wird in der Liste kein entsprechendes Fragmentation gefunden, wird entsprechend den in Abschnitt 3.3.2 erläuterten Regeln geprüft, ob die Abspaltung ein chemisch sinnvolles Fragment darstellt. Ist dies der Fall, wird die Fragmentierung mit 2 Punkten bewertet.

C_2H_2 , C_2H_4 , C_2H_6 , C_3H_5 , C_3H_6 , C_3H_8 , C_4H_7 , C_4H_8 , C_4H_{10} ,
 C_6H_5 , H_2O , CO , CO_2 , CHO , CH_2O , CH_4O , C_2H_2O , C_2H_3O ,
 CHO_2 , C_2H_6O , C_3H_5O , $C_2H_4O_2$, NH_3 , HCN , NO_2

Tab. 3.15 Liste der möglichen Abspaltungen aus Molekülionen mit C, H, N und O

Ist die Zahl der Doppelbindungsäquivalente gleich 0.5, erhöht sich die Punktzahl auf 5. Dies trifft auf Fragmente wie H , CH_3 , OH , CF_3 usw. zu. Aus diesem Grunde sind diese Fragmente in der Liste der Abspaltungen aus Molekülionen nicht aufgenommen, da sie automatisch dieselbe Punktzahl erreichen wie die in der Tabelle aufgeführten. Alle anderen Fragmente, die ebenfalls keine ganzzahlige Anzahl von Doppelbindungsäquivalenten aufweisen, werden mit 3 Punkten bewertet. Mit dieser Höherbewertung der Fragmentierungen, bei denen Radikale abgespalten werden, wird der Regel der geraden Elektronenzahl (43) Rechnung getragen, wonach Radikale fast ausschließlich von Ionen mit ungerader Elektronenzahl abgespalten werden.

Die auf diese Weise zu einem Index aufsummierten Punkte für alle gefundenen Fragmentierungen werden vom Programm für jedes als Molekülion in Frage kommende Ion ausgedruckt. Das Ion mit dem höchsten Index stellt mit hoher Wahrscheinlichkeit das tatsächliche Molekülion dar.

Abbildung 3.15 zeigt den Ausdruck des Programmes für das Massenspektrum der Verbindung VI ($C_9H_{13}NO_3$).

MOLEKUELIONSUCHE		
MASSE	INDEX	FORMEL
166.052	16	C11 H6 N2
166.052	29	C6 H6 N4 O2
167.059	56	C8 H9 N1 O3
168.065	76	C6 H8 N4 O2
168.065	30	C5 H12 O6
168.065	56	C11 H8 N2
169.070	87	C8 H11 N1 O3
169.070	34	C10 H7 N3
171.098	20	C7 H13 N3 O2
182.081	79	C7 H10 N4 O2
182.081	39	C6 H14 O6
182.081	67	C12 H10 N2
183.089	120	C9 H13 N1 O3
183.089	57	C4 H13 N3 O5
183.089	51	C5 H9 N7 O1
184.092	98	C7 H12 N4 O2
184.092	20	C13 H12 O1
MOLEKUELION: M/Z 183.089 C9 H13 N1 O3		

Abb. 3.15 Ausdruck des Ergebnisses der Molekülionidentifizierung für die Verbindung VI ($C_9H_{13}NO_3$)

Das Programm berücksichtigt auch den Fall, daß das Molekülion nicht im Spektrum vertreten ist. Zu allen Elementkombinationen, die einer geraden Anzahl von Elektronen entsprechen,

chen und deshalb keine Molekülionen darstellen können, wird versuchsweise eine CH_3 -Gruppe hinzuaddiert. Für dieses hypothetische Molekülion wird in derselben Weise, wie vorher geschildert, ein Index berechnet. Ist dieser Index höher als der aller Formeln mit ungerader Elektronenzahl, muß angenommen werden, daß das eigentliche Molekülion nicht im Spektrum enthalten ist, und es wird ein entsprechender Hinweis ausgedruckt.

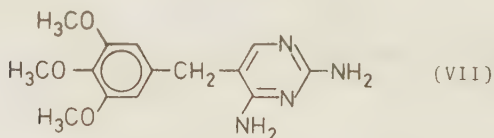
Auf diese Weise können Molekülionen, deren Intensität zwar zu gering für die Registrierung ist, die aber durch einfache Bindungsbrüche fragmentieren, erkannt werden. Lediglich bei Quasimolekülionen, wie sie z. B. durch Eliminierung von H_2O oder N_2 entstehen, versagt diese Methode.

4. Fragmentierung von 1,2,3-Trimethoxybenzol-Verbindungen

In diesem Kapitel soll am Beispiel einer Verbindungsklasse gezeigt werden, wie die verschiedenen Meßmethoden der Massenspektrometrie eingesetzt werden können, um das Abbauverhalten einer Verbindung unter den im Massenspektrometer vorliegenden Meßbedingungen (Gasphase, Ionisierung, unimolekulare Reaktion) aufzuklären. An Methoden wurden hierbei vor allem die verschiedenen Meßtechniken an metastabilen Ionen eingesetzt, bei denen durch Energieanalyse von in feldfreien Räumen des Massenspektrometers zerfallenden Ionen zusätzliche Informationen über die Zerfallswege und die bei der Dissoziation freiwerdenden Energie erhalten werden.

Die dadurch ermöglichte Interpretation der Fragmentierung wurde untermauert durch Hochauflösungsmessungen an den ausgewählten Verbindungen, wobei die im ersten Teil dieser Arbeit entwickelten Programme zur Berechnung der elementaren Zusammensetzung von Ionen zur Anwendung kamen. Außerdem lieferte auch die klassische Methode der Isotopenmarkierung wichtige Hinweise zu den beobachteten Zerfallsreaktionen.

Als Verbindungsklasse wurden 1,2,3-Trimethoxybenzol-Derivate ausgewählt. Den Anstoß hierzu gab das Massenspektrum der Verbindung VII, das in den Primärzerfallsschritten einige Besonderheiten aufweist (siehe Abb. 4.1).



Dies betrifft insbesondere die unerwartet hohe Intensität des Übergangssignals für die Abspaltung einer Methoxy-Gruppe aus dem Molekülion (m/z 290 $\rightarrow$ m/z 259) und die Bildung des

Ions m/z 243, das sich gemäß der Hochauflösungsmessung durch Abspaltung von CH_3OH aus m/z 275 ($\text{M} - \text{CH}_3$)⁺ erklären läßt.

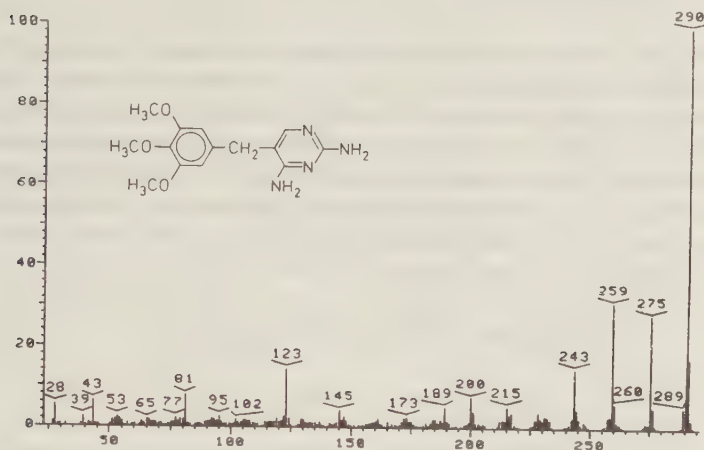


Abb. 4.1 Massenspektrum von 5-(2,4-Diamino)-pyrimidinyl-3,4,5-trimethoxyphenyl-methan

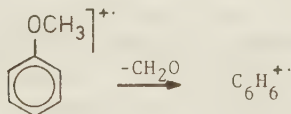
Im letzteren Falle wäre als Folgereaktion von $\text{M}^+ \rightarrow (\text{M} - \text{CH}_3)^+$ eher die Abspaltung von CO zu erwarten gewesen. Diese Reaktion spielt jedoch nur eine untergeordnete Rolle.

Die ungewöhnliche Fragmentierung gab den Anlaß, näher auf die Massenspektren von Trimethoxybenzol-Verbindungen einzugehen.

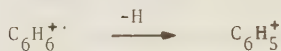
4.1 Literaturübersicht

Die erste Arbeit, die sich mit den Massenspektren von Methoxybenzol-Verbindungen beschäftigt, stammt von Barnes und Occolowitz (44). Sie stellten fest, daß bei der Stammverbindung, dem Anisol, die Fragmentierung durch Spaltung einer der beiden C-O-Bindungen beginnt. Der Zerfall an der Bindung zum Ring hat die Abspaltung von Formaldehyd oder einer Methoxy-Gruppe zur Folge. Für den letzteren Fall wurde ein zweistufiger Mechanismus formuliert, nämlich

1. Abspaltung von Formaldehyd aus dem Molekulation

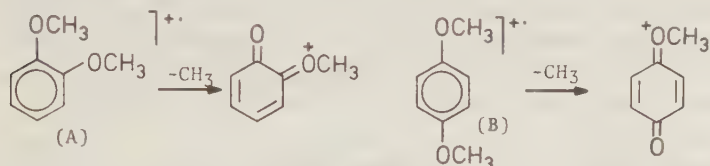


2. Abspaltung eines Wasserstoffradikals

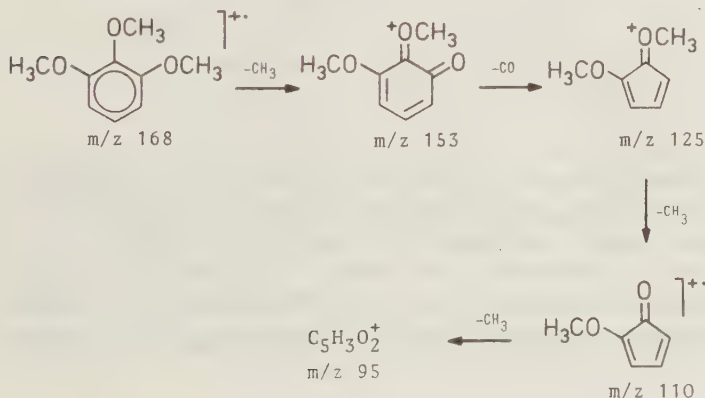


Ein ähnlicher Mechanismus wurde für die bei den drei Methoxytoluol-Verbindungen beobachtete OCH_3 -Abspaltung aus dem Molekulation aufgestellt, wobei als Ergebnis das stabile Tropylium-Ion entsteht. Durch Deuterium-Markierung der OCH_3 -Gruppe konnte jedoch inzwischen nachgewiesen werden (47), daß im Widerspruch zu diesem vorgeschlagenen Mechanismus die Abspaltung der Methoxy-Gruppe sowohl bei Anisol als auch bei m- und p-Methoxytoluol zum größten Teil in einem einzigen Schritt erfolgt.

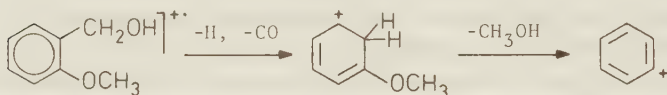
Bei den Massenspektren der drei Dimethoxybenzole beobachteten Barnes und Occolowitz erhebliche Unterschiede zwischen der ortho- und para-Verbindung einerseits und meta-Dimethoxybenzol, Anisol und den Methoxytoluolen andererseits. Bei den ersteren beiden Verbindungen werden keine Ionen aus dem Verlust von Formaldehyd registriert, stattdessen beginnt die Fragmentierung ausschließlich durch Abspaltung eines Methyl-Radikals und nachfolgenden Verlust von CO. Erklären läßt sich dieses Verhalten durch die Bildung stabiler chinoider Strukturen, wozu nur o- und p-Dimethoxybenzol (A und B) in der Lage sind, nicht jedoch das meta-Isomere.



Die drei Methoxyphenol-Isomere verhalten sich in den Primärabspaltungen ähnlich wie die Dimethoxybenzole. Auch hier bestimmt die Fähigkeit zur Ausbildung chinoider Resonanzstrukturen bei der ortho- und para-Verbindung die Fragmentierung, ähnlich wie auch bei 1,2,3-Trimethoxybenzol (Pyrogalloltrimethylether), dessen Massenspektrum Barnes und Occolowitz mit dem folgenden Fragmentierungsschema deuteten:

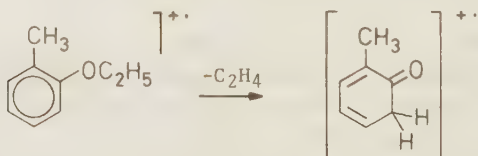


Die Massenspektren aromatischer Methylether und Ethylether untersuchten Pelah et al. (45). Bei o- und p-Methoxybenzylalkohol fanden sie neben dem Verlust einer Hydroxy-Gruppe als Hauptreaktion die Abspaltung von CO und H, gefolgt von Methanol-Eliminierung:



Einen (M-31)-Peak fanden sie in beiden Spektren, wofür eine zweistufige Reaktion ($-\text{CH}_2\text{O}$, $-\text{H}$) angenommen wurde, da bei der in Benzyl-Stellung deuterierten Verbindung eine teilweise Verschiebung von M-31 zu M-32 beobachtet wurde.

Ein einfacheres Fragmentierungsschema zeigen die Ethoxybenzol-Verbindungen. Hier ist in allen Fällen die Eliminierung von Ethylen aus dem Molekölion die Hauptreaktion, wobei in der Regel beim Tochterion eine Hydroxy-Gruppe gebildet wird. Bei Methylethoxybenzolen fanden die Autoren allerdings Hinweise auf das Vorliegen einer Keto-Form, wie schon von McLafferty (46) vorgeschlagen wurde:

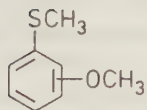


Meyer und Harrison (47) führten Deuterium-Isotopenmarkierungen bei Anisol und bei m- und p-Methylanisol durch. Sie konnten zeigen, daß die Abspaltung eines H-Radikals aus dem Molekölion überwiegend die Methyl-Gruppe betrifft. Bei der Formaldehyd-Abspaltung aus an der Methylgruppe deuteriertem Anisol beobachteten sie zu 88 % Abspaltung von CD_2O , während

der Rest sich aus CHDO und CH_2O zusammensetzte. Letzteres läßt auf eine Umlagerung im Mutterion schließen. Dagegen deutet die hohe Intensität von m/z 77 ($\text{M} - \text{OCH}_3$)⁺ in der deuterierten Substanz auf eine überwiegende Abspaltung der Methoxy-Gruppe durch einfachen Bindungsbruch hin, während ein zweistufiger Mechanismus (44, 45) weitgehenden H/D-Austausch mit Verschiebung von m/z 77 zur Folge haben sollte.

Bei m- und p-Methoxytoluol ergab die Isotopenmarkierung, daß der Wasserstoff bei der H-Radikal-Abspaltung aus dem Molekölion sowohl aus dem Ring als auch aus der Methyl-Gruppe stammt, nicht jedoch aus der Methoxy-Gruppe. Bei der CH_2O - und OCH_3 -Eliminierung wurde kein nennenswerter Austausch der Methoxy-Wasserstoffe beobachtet.

Bowie et al. (48) untersuchten aromatische Thioether. Bei den drei isomeren Methoxythioanisol-Verbindungen bestimmten sie durch Deuterierung der S-Methyl-Gruppe, in welchem Verhältnis die S-Methyl- und die O-Methyl-Gruppe bei der Bildung des (M-15)⁺-Ions beteiligt sind:

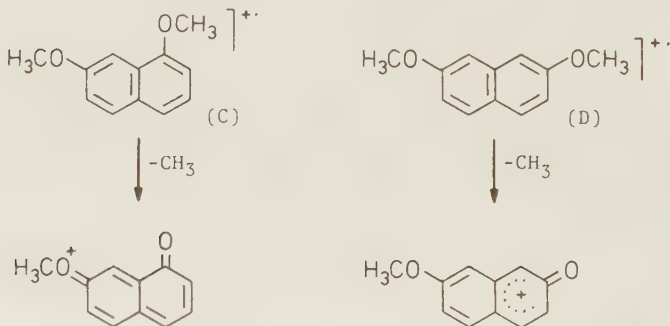
		
	- CH_3 (S)	- CH_3 (O)
ortho	20 %	80 %
meta	75 %	25 %
para	43 %	57 %

Die Meßdaten zeigen, daß in den Fällen, wo ein chinoides Oxonium-Ion gebildet werden kann (ortho- und para-Verb.), der Abgang der O-Methyl-Gruppe dominiert, während bei Fehlen dieses konjugativen Effekts die Eliminierung der S-Methyl-Gruppe bevorzugt wird.

Beim ortho-Isomeren wurde für das Ion (M-15)⁺ eine teilweise

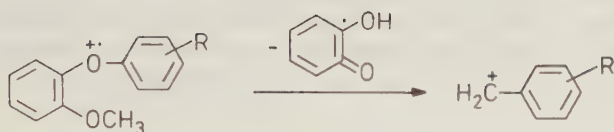
Wanderung der zweiten Methyl-Gruppe zum anderen Substituenten vermutet, da die Ionen, die durch die anschließende Abspaltung von CO bzw. CS entstehen, bei der deuterierten Verbindung jeweils partiell verschoben sind.

Einen Einfluß auf die Fragmentierung durch das Entstehen chinoider Oxonium-Ionen fanden Barnes et al. auch bei Naphthalin-Derivaten (49). 1,7-Dimethoxynaphthalin (C) zeigt ein intensives (M-15)-Ion (87 % rel. Intensität), während bei 2,7-Dimethoxynaphthalin (D) nur 0,9 % Intensität gefunden werden, bedingt durch die fehlende Möglichkeit zum Ausbilden von Resonanzstrukturen.

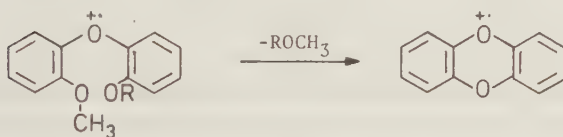


Bei den Spektren von 2-, 3- und 4-Methoxystilben hoben die Autoren die hohe Intensität für die Reaktion $M^+ \rightarrow (M - OCH_3)^+$ hervor (7 - 30 %). Als Triebkraft hierfür wurde die Stabilität des gebildeten Carbenium-Ions angeführt.

Ballantine und Pillinger (50) fanden in den Massenspektren substituierter ortho-Methoxydiphenylether Ionen, die sich nur durch Übertragung einer Methylen-Gruppe (aus dem Methoxy-Substituenten) an den zweiten Ring deuten lassen:



Bei ortho-Dimethoxyphenylethern mit einer OH- oder OCH₃-Gruppe in 2'-Stellung des anderen Ringes wurde Eliminierung von Methanol bzw. Dimethylether gefunden, wofür eine Cyclisierungsreaktion vorgeschlagen wurde:

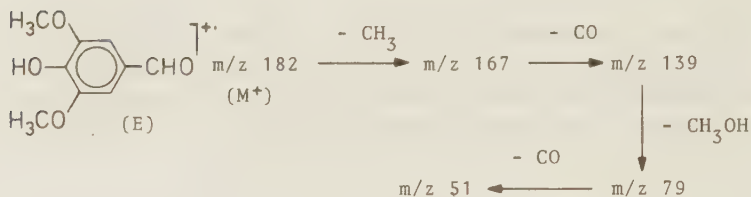


Einen analogen Ringschluß fanden Bottino et al. (51) in den Spektren von Di-(2,4-dimethoxyphenyl)-sulfiden. Cyclisierungen unter Beteiligung von Methoxy-Gruppen fanden auch Aczel und Lumpkin (52) sowie Ramana und Sundaram (53) bei ortho-Methoxybenzoesäure, McGillivray und Poulton (54) bei Methylmaltol und Verchère, Hocquaux und Viel (55) bei einem Tetrahydroisochinolin, in letzterem Falle jedoch ohne Beleg durch einen entsprechenden metastabilen Übergang.

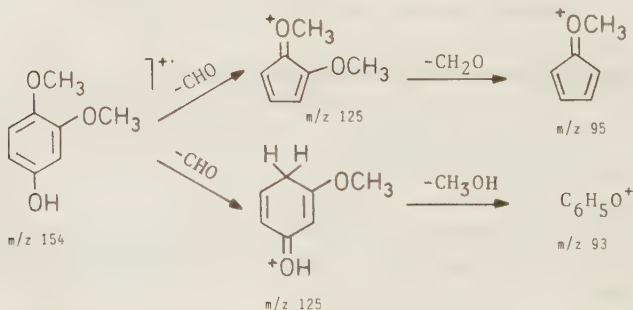
Eine ungewöhnliche Eliminierung von Sauerstoff aus dem Molekulation ($M^+ \rightarrow M-16$) bei 2-Methoxystilben fanden Mintas et al. (56). Zur Erklärung wurde die Wanderung der Methyl-Gruppe an die Ethylen-Doppelbindung postuliert.

Kováčik und Mitarbeiter veröffentlichten die Massenspektren einer Reihe Modellspezstanzen des Lignins (57). Sie stellten fest, daß mit steigender Anzahl von Methoxy-Gruppen als

Ring-Substituenten die Intensität von (M-1)-Ionen zurückgeht, dagegen (M-15)-Ionen in der Intensität steigen. Für 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyd (E) stellten die Autoren ein Fragmentierungsschema auf, ohne daß jedoch Vorschläge für die Strukturen der Ionen gemacht wurden.



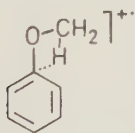
Eine ausführliche Interpretation der massenspektrometrischen Fragmentierung von Methoxy- und Dimethoxyphenylacetaten gab Thomas (58). Der Zerfall dieser Verbindungen beginnt überwiegend mit der Eliminierung von Keten. Im Zusammenhang mit dieser Arbeit ist der Abbau der Methoxy-Gruppen in der weiteren Fragmentierung von Bedeutung. Das aus 3,4-Dimethoxyphenylacetat entstehende Quasi-Molekülion m/z 154 spaltet unter anderem ein Formyl-Radikal ab unter Bildung des Ions m/z 125, für das der Autor aufgrund der weiteren Fragmentierung verschiedene Strukturen annahm:



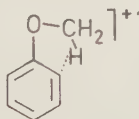
Der Übergang m/z 125 nach m/z 93 (Methanol-Eliminierung) ist bei den Isomeren, die eine Methoxy-Gruppe in ortho-Stellung zur Hydroxy-Gruppe besitzen, besonders leicht zu erklären und auch durch metastabile Peaks belegt. Er wird aber auch bei 3,5-Dimethoxyphenylacetat (alle Substituenten meta-ständig zueinander) beobachtet.

Lacy, McDonald und Shannon (59) untersuchten die Formaldehyd-Eliminierung aus Anisol näher und konnten in Ergänzung der Arbeiten von Meyer und Harrison (47) durch selektive Deuterierung nachweisen, daß ein Austausch der Methylwasserstoffe nur mit den Ringwasserstoffen in der ortho-Position stattfindet. Dies spricht für einen fünfgliedrigen Übergangszustand bei dieser Reaktion. Der Austausch der Methylwasserstoffe mit denen des Ringes erreicht jedoch bei weitem nicht eine Gleichgewichtseinstellung, wie das Metastabilen-Spektrum des Mutterions von Methyl- d_3 -Anisol, das von Lacey und McDonald (60) veröffentlicht wurde, zeigt.

Cooks et al. zeigten mit einer Analyse der Peakformen der metastabilen Übergänge und anhand von thermodynamischen Daten, daß sowohl ein viergliedriger als auch ein fünfgliedriger Übergangszustand in Betracht gezogen werden muß (61).



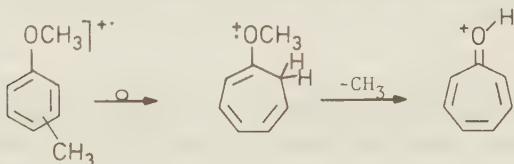
viergliedrig



fünfgliedrig

Ein Vergleich der metastabilen Übergänge für die Methylgruppen-Abspaltung aus dem Molekülion ergab bei den meisten para-substituierten Anisolen normale Peakformen, die für einen einfachen Bindungsbruch sprechen. Nur bei p-Methyl-

anisol wurde ebenso wie bei o-Methylanisol eine Überlagerung beobachtet, die auf einen zweiten Mechanismus hindeutet, der nur bei methylsubstituierten Anisolen auftritt. Die Autoren ordneten diesen Übergang der Bildung eines siebengliedrigen protonierten Tropon-Ions zu:



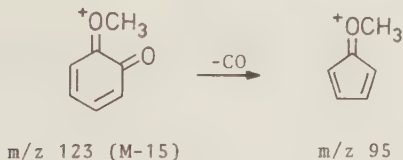
Der Einfluß von Substituenten auf die Fragmentierung von Anisolen beschäftigte verschiedene Arbeitsgruppen. Gemessen wurde der Einfluß auf die Peakintensitäten (62), auf die Ionisierungs- und Auftrittsenergie (63) und auf die bei metastabilen Zerfällen freigesetzte kinetische Energie (64).

Florêncio, Heerma und Dijkstra (65) untersuchten die Primärfragmentierungen von Dimethoxytoluolen. Für die Reaktion $M^+ \rightarrow (M-H)^+$ ergab ein Vergleich der Kinetic-energy-release-Werte (KER), daß von den drei Isomeren mit metaständigen Methoxy-Gruppen nur bei 3,5-Dimethoxytoluol eine Tropylium-Struktur vorliegt, während die anderen beiden Isomeren in der Lage sind, durch Konjugation der entstehenden Methylen-Gruppe mit einer Methoxy-Gruppe eine Stabilisierung zu erreichen. Die Isomeren mit ortho- und para-ständigen Methoxy-Gruppen zeigen diese H-Radikal-Abspaltung in geringerem Maße; stattdessen sind andere Reaktionen, wie die CH_3 -Eliminierung, stärker begünstigt. Diese Reaktion geht gemäß den Deuterium-Isotopenmarkierungen fast ausschließlich von der Methoxy-Gruppe aus; der Methyl-Substituent hat nur bei 3,5-Dimethoxytoluol einen geringen Anteil.

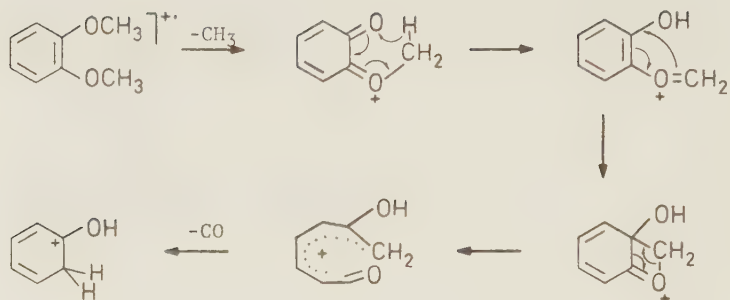
Anders als Cooks et al. im Falle der Monomethoxytoluole (61) schlossen die Autoren bei den Dimethoxytoluolen die Bildung

eines Tropylium-Ions nach der CH_3 -Eliminierung aus. Bei 2,4-Dimethoxytoluol und 2,6-Dimethoxytoluol wurden in den Meta-stabilen-Peakformen Hinweise auf eine H-Wanderung von dem Methyl-Substituenten zu der ortho-ständigen Methoxy-Gruppe gefunden. Die Eliminierung von CHO , CH_2O und OCH_3 wird mit höheren Intensitäten nur bei den Isomeren beobachtet, bei denen die Methoxy-Gruppen in meta-Position zueinander stehen. Das Ion $(\text{M} - \text{OCH}_3)^+$ bei 2,6-Dimethoxytoluol wird nach den Deuterium-Markierungen zu 50 % in einem Schritt gebildet und zu 50 % in einem Zweistufen-Mechanismus mit getrennter H- und CH_2O -Abspaltung.

Die Sekundärreaktion der CO-Abspaltung aus dem $(\text{M}-15)^+$ -Ion bei Dimethoxybenzolen wurde eingehend von Florêncio, Heerma und Vijfhuizen untersucht (66). Für die bei dieser Reaktion entstehenden Ionen wurde bisher ausschließlich eine Cyclopentadienyl-Struktur angenommen (1, 2, 15):



Ein Vergleich der CA-Spektren des Ions m/z 95 ($\text{C}_6\text{H}_7\text{O}^+$) von protoniertem Phenol, das durch chemische Ionisierung erzeugt wurde, und von den drei Dimethoxybenzol-Isomeren ergab für ortho-Dimethoxybenzol, daß es nach der CO-Abspaltung zu etwa 60 % in der Form des protonierten Phenols vorliegt. Bei den anderen beiden Isomeren hat nur ein geringer Anteil der Ionen m/z 95 diese Struktur. Der von den Autoren vorgeschlagene Mechanismus für die Bildung dieses Ions lautet folgendermaßen:



Bemerkenswert ist hierbei, daß der Sauerstoff des eliminierten Kohlenmonoxids aus der intakten Methoxy-Gruppe stammt.

4.2 1,2,3-Trimethoxybenzol

Das Massenspektrum von 1,2,3-Trimethoxybenzol (Pyrogallol-trimethylether, siehe Abb. 4.2) wurde bereits von Barnes und Occolowitz (44) angegeben und teilweise interpretiert.

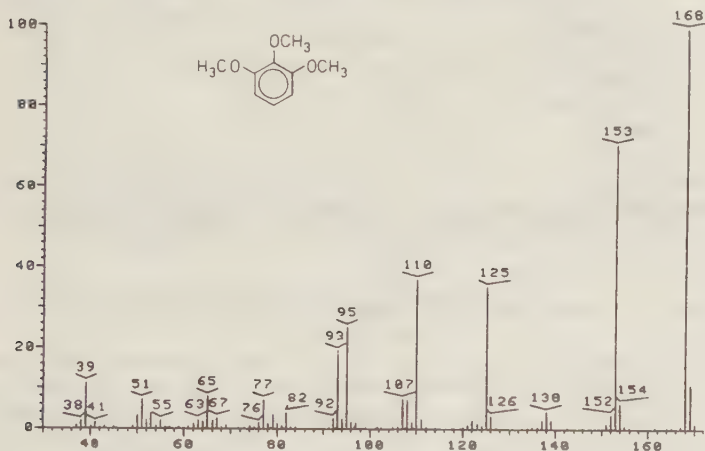


Abb. 4.2 Massenspektrum von 1,2,3-Trimethoxybenzol

In dieser Arbeit soll eine eingehendere Betrachtung der Fragmentierung dieser Verbindung vorgenommen werden. Hierzu wurden neben Metastabilen- und Hochauflösungsmessungen verschiedene partiell deuterierte Derivate hergestellt und ihre Massenspektren aufgenommen. Abbildung 4.3 zeigt die metastabilen Übergänge von Pyrogalloltrimethylether, aufgenommen durch Magnetfeldscans bei schrittweise veränderter Feldstärke des elektrischen Sektorfeldes (näheres s. Anhang D). Die wichtigsten Übergänge und die Auswertung der Massenfeinbestimmung sind in Tabelle 4.1 zusammengefaßt.

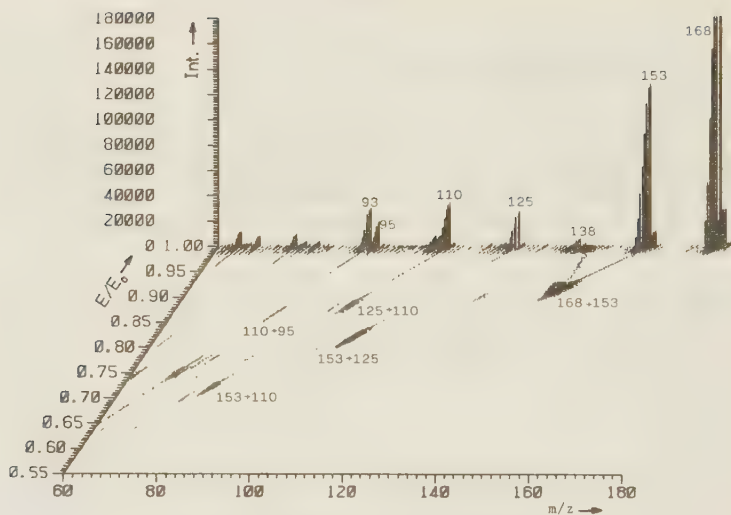


Abb. 4.3 Metastabile Übergänge von 1,2,3-Trimethoxybenzol

Metastab. Peak m*	Verhältnis E/E_0	relative Intensität	Übergang	Abspal- tung von
139.1	0.90908	100.0	168 + 153	CH ₃
124.4	0.90121	5.3	153 + 138	CH ₃
96.8	0.88032	17.5	125 + 110	CH ₃
82.0	0.86352	6.5	110 + 95	CH ₃
102.5	0.81925	21.8	153 + 125	CO
82.8	0.77389	3.5	138 + 107	OCH ₃
61.3	0.74721	6.7	110 + 82	CO
69.4	0.74549	22.2	125 + 93	CH ₃ OH
58.4	0.73930	7.3	107 + 79	CO
79.3	0.72015	17.5	153 + 110	C ₂ H ₃ O
46.3	0.70489	17.0	93 + 65	CO
47.0	0.70509	6.9	95 + 67	CO
75.2	0.70140	5.2	153 + 107	C ₂ H ₅ O
56.4	0.60656	40.5	153 + 93	C ₂ H ₄ O ₂

Tab. 4.1 Metastabile Übergänge von 1,2,3-Trimethoxybenzol

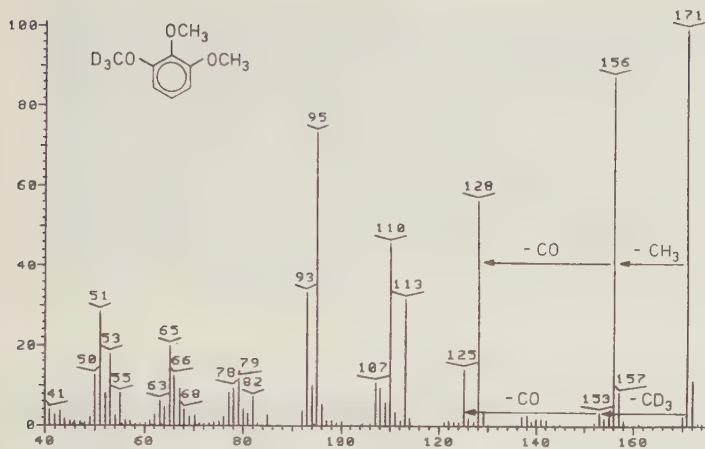


Abb. 4.4 Massenspektrum von 2,3-Dimethoxy-1-Trideuteromethoxybenzol

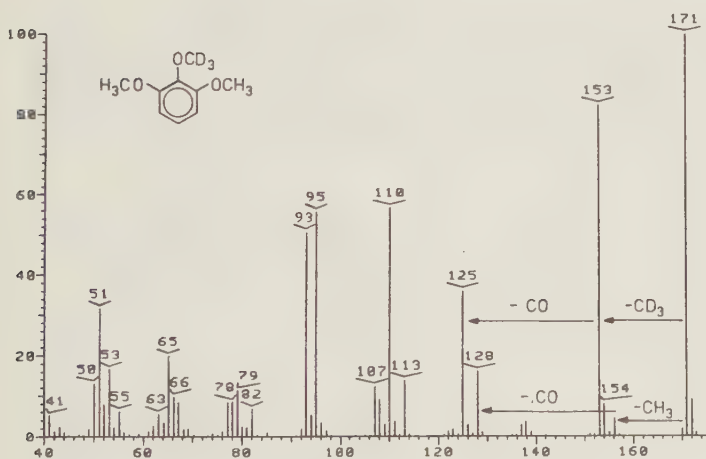
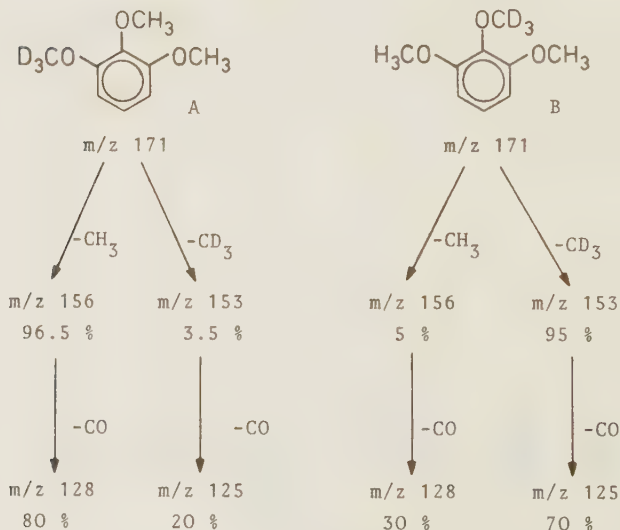


Abb. 4.5 Massenspektrum von 1,3-Dimethoxy-2-Trideuteromethoxybenzol

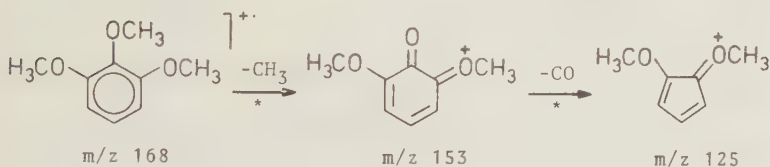
Zunächst interessierte, in welchem Verhältnis die mittlere und die äußeren Methoxy-Gruppen an der Primärreaktion, der Abspaltung einer Methyl-Gruppe, beteiligt sind. Abb. 4.4 und 4.5 zeigen die Massenspektren der entsprechend Deuterium-markierten Verbindungen (Darstellung der Substanzen s. Anhang C). In den Spektren ist ein Wasserstoff-Scrambling bei der CH_3 - bzw. CD_3 -Abspaltung praktisch nicht zu beobachten; die Methyl-Gruppen bleiben bei der Reaktion intakt. Ein zweistufiger Mechanismus, wie von Barnes und Occolowitz (44) formuliert, kann hier ausgeschlossen werden.

Von dem Verlust der Methyl-Gruppe ist zu etwa 95 % die mittlere der drei Methoxy-Gruppen betroffen. Dies zeigt übereinstimmend sowohl die in der mittleren Position markierte Verbindung (A) als auch die in einer der äußeren deuterierte (B):

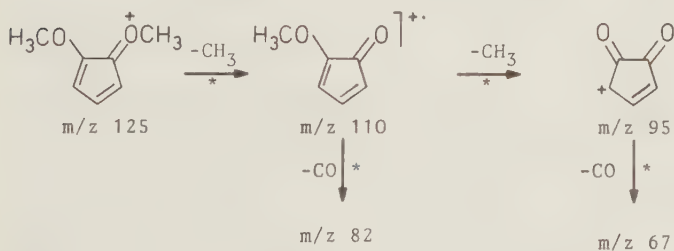


Bemerkenswert ist jedoch, daß bei der nachfolgenden Reaktion (CO-Eliminierung) sich das Verhältnis zugunsten der äußeren Position verschiebt. Die Eliminierung von CO ist offensichtlich stärker begünstigt, wenn im ersten Schritt eine der äußeren Methyl-Gruppen abgespalten wird.

Bei der CO-Eliminierung von Pyrogalloltrimethylether ist zumindest für den überwiegenden Teil der Ionen eine Ringverengung zum Fünfring anzunehmen (ein alternativer Mechanismus wird später diskutiert):



Nach der CO-Eliminierung tritt eine Aufspaltung in der Fragmentierung ein. Der größere Teil des Ions $(M - \text{CH}_3 - \text{CO})^+$ fragmentiert gemäß den metastabilen Übergängen mit einer ungewöhnlichen zweimaligen Methylradikal-Abspaltung weiter:



Der zweite Fragmentierungszweig beginnt mit dem Übergang von m/z 125 nach m/z 93. Dies entspricht nach der Hochauflösungsmessung einer Eliminierung von Methanol, wobei anzunehmen ist, daß hier eine der beiden verbliebenen Methoxy-Gruppen betroffen ist. Um zu entscheiden, von welcher Position das zur Bildung des Methanols benötigte vierte Wasserstoffatom stammt, wurde die Trimethoxy- d_9 -Verbindung dargestellt. Abb. 4.6 zeigt das Massenspektrum der Verbindung.

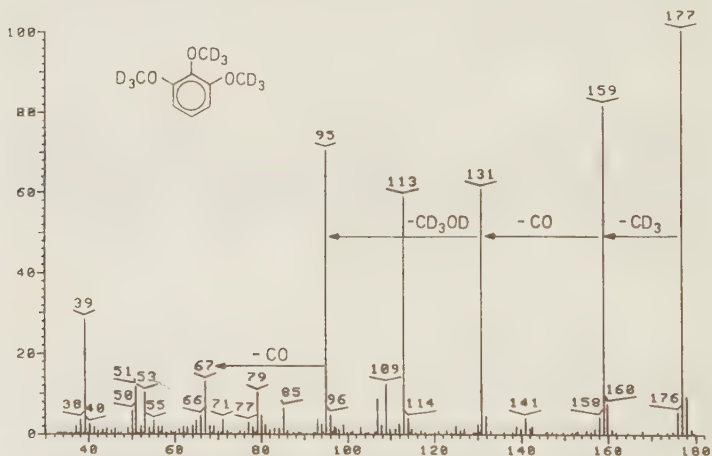
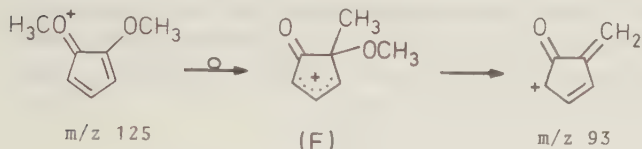


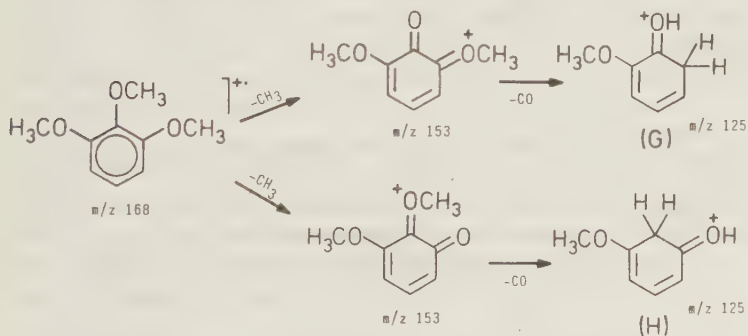
Abb. 4.6 Massenspektrum von 1,2,3-Tris-(trideutero-methoxy)-benzol

Das Ion m/z 125 der nicht deuterierten Verbindung ist, wie zu erwarten, nach m/z 131 verschoben, das Folgeion m/z 93 dagegen fast quantitativ nach m/z 95. (Gemäß der Hochauflösungsbestimmung setzt sich m/z 95 zu 47 % aus $C_6H_3O_1D_2^+$ und zu 53 % aus $C_5H_3O_2^+$ zusammen). Dies entspricht einer Eliminierung von CD_3OD und bedeutet, daß das vierte Wasserstoff- bzw. Deuteriumatom aus der zweiten verbliebenen Methoxy-Gruppe stammt.

Zur Erklärung dieser Beobachtung sind zwei verschiedene Mechanismen denkbar. Zum einen läßt sich eine Umlagerung der Fünfringstruktur des Ions m/z 125 von Pyrogalloltrimethylether mit Wanderung einer Methyl-Gruppe annehmen, die zu dem Ion F Ion führt, bei dem eine Methanol-Eliminierung möglich erscheint (67)*:



Bei dem zweiten Mechanismus muß für die CO-Eliminierung nach m/z 125 eine Umlagerung ähnlich der von Florêncio, Heerma und Vijfhuizen (66, s. Abschnitt 4.1) für die CO-Abspaltung von o-Dimethoxybenzol aufgestellten zugrunde gelegt werden, die zu einer Sechsringstruktur für m/z 125 führt:



Die Strukturen G und H lassen eine Methanol-Abspaltung mög-

* Für den Hinweis auf diesen Mechanismus danke ich Herrn Prof. Dr. N. Nibbering, Universität Amsterdam

lich erscheinen; sie setzen das vorhergehende Einklappen einer Methylen-Gruppe in den Ring voraus. Dies wiederum würde erklären, warum die Methanol-Abspaltung erst nach der CO-Eliminierung beobachtet wird.

Welcher der beiden Mechanismen zutrifft, kann mit dem vorliegenden Datenmaterial nicht entschieden werden. Für die Strukturen G und H spricht die Peakform des metastabilen Übergangs $m/z\ 153 \rightarrow m/z\ 125$ (Abb. 4.7), die mit Hilfe eines Beschleunigungsspannungsscans (s. Anhang D) registriert wurde.

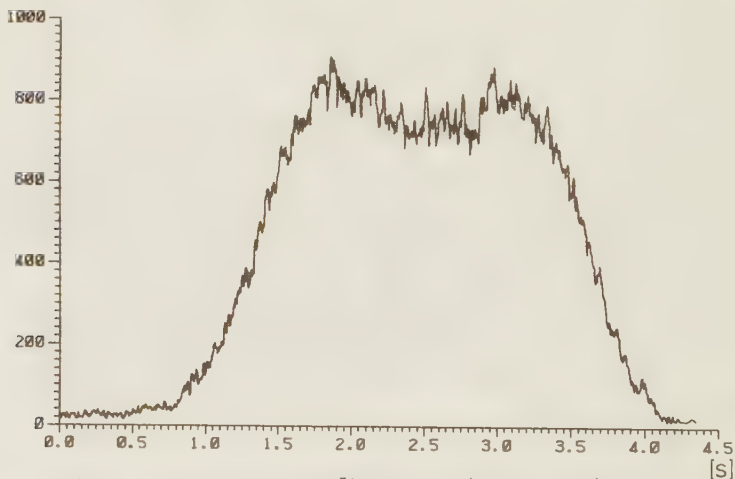


Abb. 4.7 Metastabiler Übergang $m/z\ 153 \rightarrow m/z\ 125$
von Pyrogalloltrimethylether
Beschleunigungsspannungsscan mit 55.6 V/s

Aus der Gestalt des Signals geht hervor, daß es hierbei zu einer Überlagerung zweier Reaktionen kommt. (Die Einbuchtung im Zentrum des Signals, bedingt durch die Ausblendung von Ionen mit hoher Geschwindigkeitskomponente in z-Richtung des

Magnetfeldes, sollte bei der gegebenen Breite des Peaks stärker sein.)

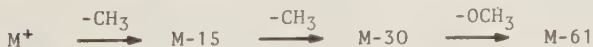
Weiterhin spricht für eine Sechsringstruktur von m/z 93 die Folgereaktion der CO-Eliminierung nach m/z 65. Für diesen Übergang wurde aus der Breite des metastabilen Ions annähernd der gleiche KER-Wert bestimmt wie für die analoge Reaktion bei Anisol, dessen Tochterion m/z 93 ($M - CH_3$)⁺ die gleiche Struktur haben sollte wie das Ion, das sich aus der Methanol-Eliminierung ergeben würde:



m/z 93

Einer Sechsring-Struktur von m/z 125 widerspricht jedoch, daß keine H_2O -Abspaltung ausgehend von diesem Ion beobachtet werden konnte, obwohl sie bei den vorgeschlagenen Strukturen G und H naheliegen würde. Die Wasser-Eliminierung würde zu m/z 107 ($C_7H_7O^+$) führen. Nach der Hochauflösungsanalyse besteht jedoch Masse 107 überwiegend aus $C_6H_3O_2^+$ und zu einem Anteil von nur etwa 20 % aus $C_7H_7O^+$. Ein metastabiles Ion für die Wasserabspaltung konnte ebenfalls nicht beobachtet werden, wohl aber für den Übergang m/z 183 $\rightarrow$ m/z 107.

Abb. 4.8 enthält ein Schema der Fragmentierung von 1,2,3-Trimethoxybenzol mit den von uns vorgeschlagenen Strukturen, soweit sie durch das vorhandene Datenmaterial gestützt werden. Besondere Beachtung verdient die bisher noch nicht erwähnte Reaktionsfolge



mit dreifacher Radikal-Abspaltung hintereinander.

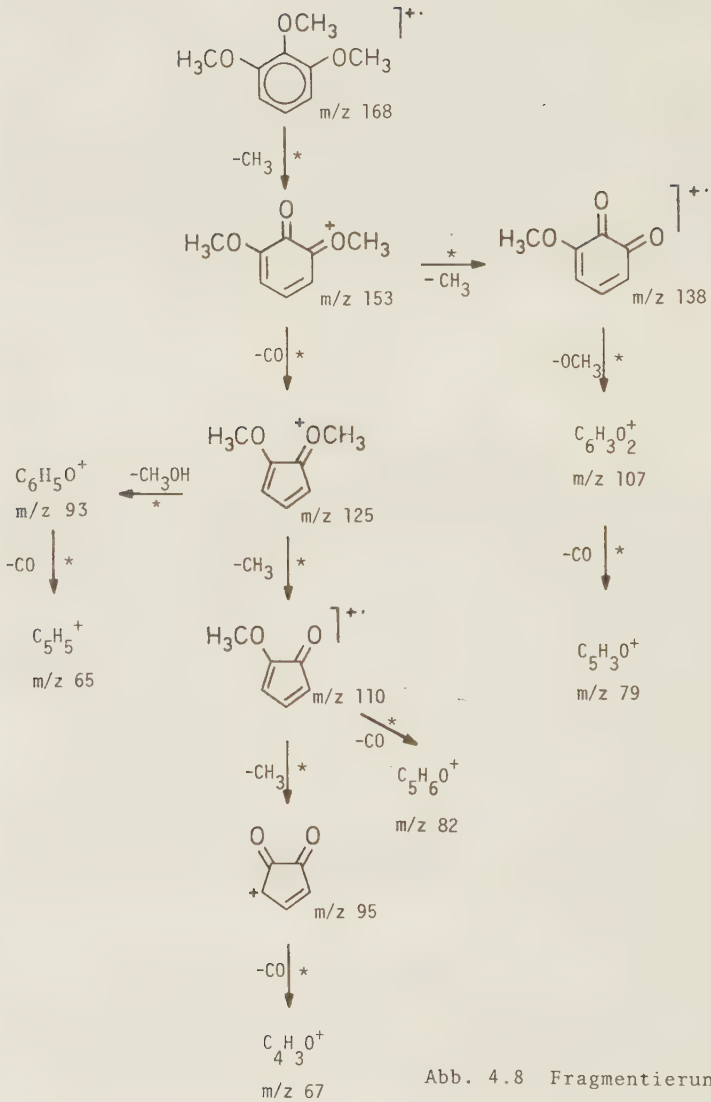


Abb. 4.8 Fragmentierung von 1,2,3-Trimethoxybenzol

4.3 Substituierte Trimethoxybenzole

Im Anschluß an die Studien am 1,2,3-Trimethoxybenzol wurde eine Reihe von substituierten Trimethoxybenzol-Verbindungen hinsichtlich ihrer massenspektrometrischen Fragmentierung untersucht. Es zeigte sich, daß die drei benachbarten Methoxy-Gruppen eine so starke Lokalisierung der Ladung und der Radikalstelle bewirken, daß viele Substituenten nur geringen Einfluß auf die Fragmentierung nehmen. Generell läßt sich sagen, daß elektronenliefernde Substituenten die Bildung von Fragmenten begünstigen. In diesen Fällen wird häufig das (M-15)⁺-Ion zum intensivsten Signal im Spektrum, so z. B. bei 3,4,5-Trimethoxytoluol (Abb. 4.9). Der Methyl-Substituent nimmt jedoch an den wichtigsten Abbaureaktionen nicht teil. Die Fragmentierung ähnelt stark der des Pyrogalloltrimethylethers.

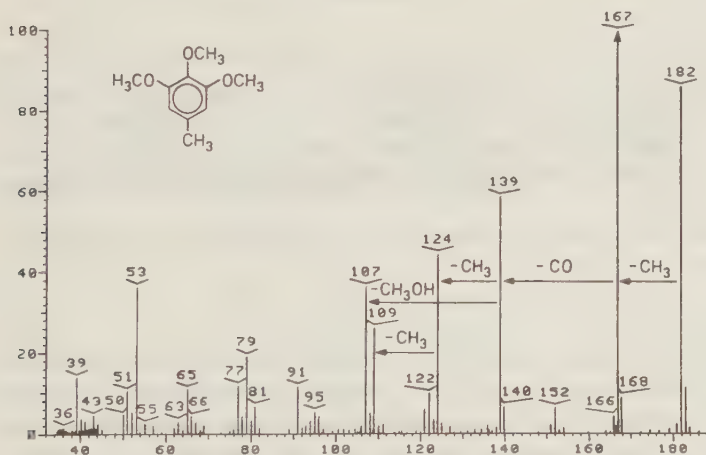


Abb. 4.9 Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxytoluol

Umgekehrt schwächen elektronenziehende Substituenten die Intensitäten der Fragmentierungsreaktionen, wie bei 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd (Abb. 4.10). Hier wird in der Reaktionsfolge $(M - CH_3)^+ \rightarrow (M - CH_3 - CO - CO)^+$ ($m/z\ 181 \rightarrow m/z\ 125$) auch die Aldehyd-Gruppe eliminiert, so daß die Ionen $m/z\ 125$, $m/z\ 110$, $m/z\ 95$ und $m/z\ 93$ vermutlich identisch sind mit den entsprechenden Ionen im Spektrum von Pyrogalloltrimethylether.

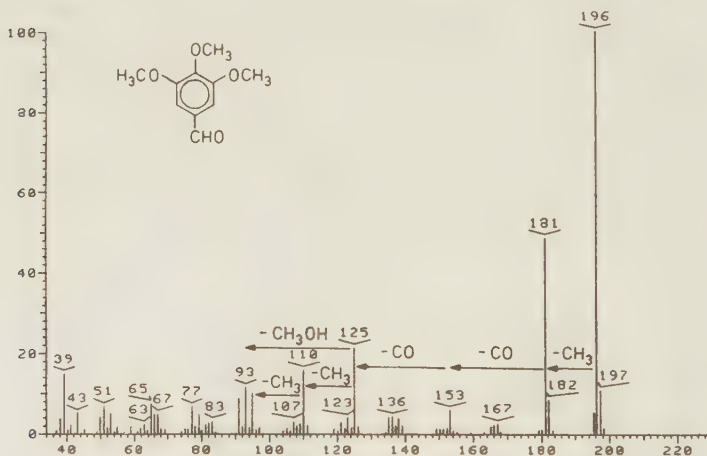


Abb. 4.10 Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd

Abb. 4.11 zeigt das Massenspektrum von 5-Trideuteromethoxy-1,2,3-trimethoxybenzol. Das Spektrum verdeutlicht noch einmal, wie sehr die Fragmentierung durch die Nachbarschaft der drei Methoxy-Gruppen bestimmt ist. Der markierte 4. Substituent, obwohl chemisch äquivalent zu den anderen Substituenten, bleibt bei den Hauptreaktionen, die wiederum analog zu 1,2,3-Trimethoxybenzol verlaufen, erhalten.

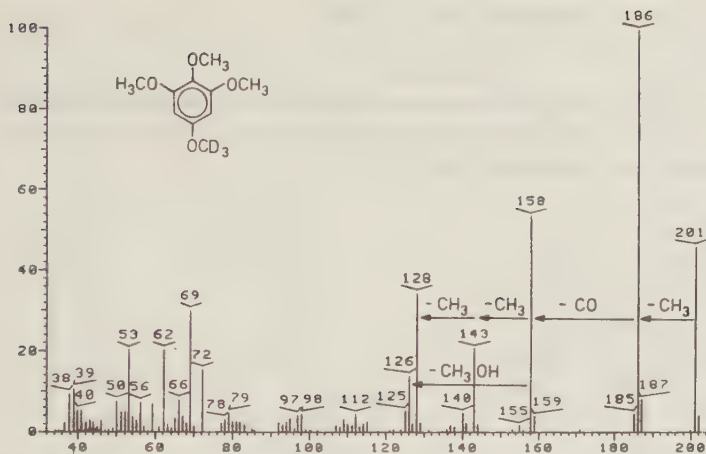


Abb. 4.11 Massenspektrum von 5-Trideuteromethoxy-1,2,3-trimethoxybenzol

Eine starke Beeinflussung der Fragmentierung der Trimethoxy-Gruppen wurde jedoch bei einigen Substituenten der Form $-\text{CH}_2\text{R}$ gefunden. Auf zwei Verbindungen dieses Typs, nämlich 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol und 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan wird im folgenden näher eingegangen.

4.4 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol

Abb. 4.12 zeigt das Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol. Die wichtigsten metastabilen Übergänge sind in Tabelle 4.2 zusammengefaßt.

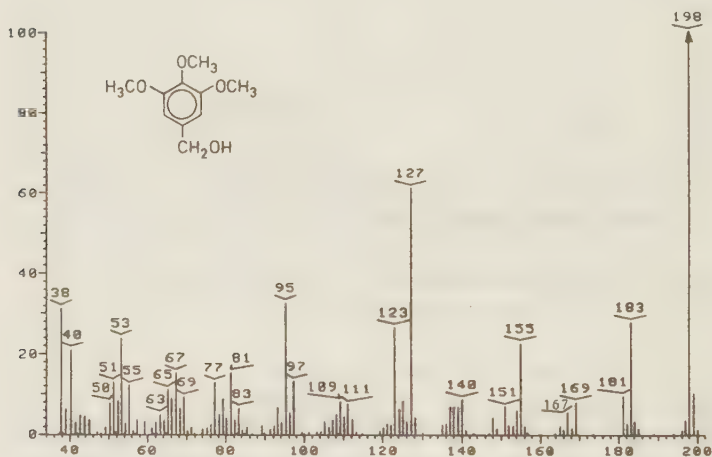


Abb. 4.12 Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol

Aus dem Spektrum lassen sich bereits Abweichungen in der Fragmentierung gegenüber den bisher besprochenen Verbindungen ersehen. Die Abspaltung eines Methoxy-Radikals aus dem Molekülion (m/z 198 $\rightarrow$ m/z 167) findet mit merklicher Intensität (5 %) statt. Die Eliminierung von Methanol wird nicht nur nach der Reaktionsfolge $M^+ \rightarrow (M - CH_3 - CO)^+$ beobachtet, sondern bereits ausgehend von dem Ion $(M - CH_3)^+$: m/z 183 $\rightarrow$ m/z 151. Daß die Fragmentierung des Trimethoxybenzylalkohols unter anderen Gesichtspunkten betrachtet werden muß, wird vollends deutlich an den Spektren der partiell deuterierten Derivate.

Metastab. Peak m*	Verhältnis E/E ₀	relative Intensität	Übergang	Abspal- tung von
169.0	0.92406	100.0	198 + 183	CH ₃
126.4	0.90326	3.0	155 + 140	CH ₃
144.1	0.85205	7.0	198 + 169	CHO
131.2	0.84621	33.2	183 + 155	CO
140.8	0.84296	5.0	198 + 167	OCH ₃
115.9	0.83339	3.4	167 + 139	CO
124.7	0.82549	4.7	183 + 151	CH ₃ OH
101.4	0.82325	1.8	151 + 123	CO
104.2	0.81880	14.5	155 + 127	CO
62.4	0.80878	5.6	95 + 77	H ₂ O
100.7	0.80527	6.8	155 + 125	CH ₂ O
89.0	0.80286	1.7	138 + 111	C ₂ H ₃
97.7	0.79405	12.9	155 + 123	CH ₃ OH
86.1	0.78950	2.6	138 + 109	C ₂ H ₅
121.7	0.78356	1.6	198 + 155	C ₂ H ₃ O
73.8	0.77366	5.0	123 + 95	CO
107.6	0.76674	1.6	183 + 140	C ₂ H ₃ O
74.6	0.76667	4.3	127 + 97	CH ₂ O/ C ₂ H ₆
110.8	0.74763	2.0	198 + 148	C ₁ H ₆ O ₂
82.8	0.67358	5.3	183 + 123	C ₂ H ₄ O ₂
51.7	0.63746	6.6	127 + 81	C ₂ H ₆ O
48.6	0.62750	1.2	123 + 77	CH ₂ O ₂

Tab. 4.2 Metastabile Übergänge von 3,4,5-Trimethoxy-
benzylalkohol

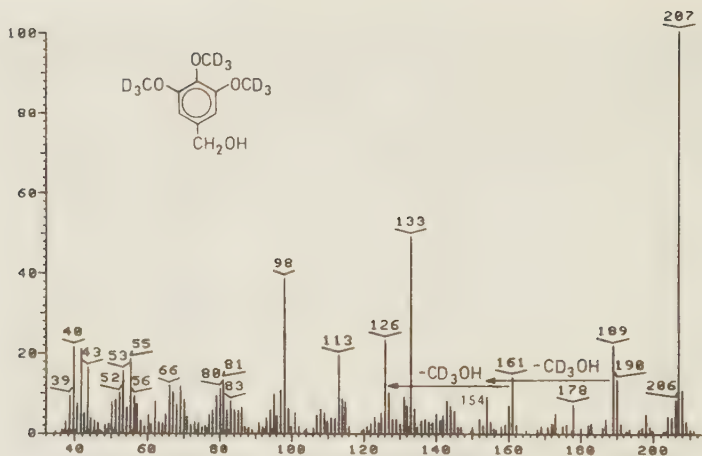
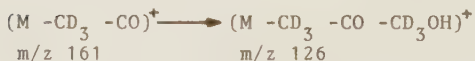
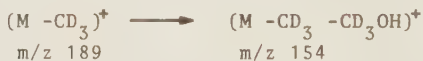


Abb. 4.13 Massenspektrum von 3,4,5-Tris-(trideutero-methoxy)-benzylalkohol

Die an den drei Methoxy-Gruppen perdeuterierte Verbindung (Abb. 4.13) zeigt im Gegensatz zu Pyrogalloltrimethylether die Abspaltung von CD_3OH in beiden Fällen:



Das vierte Wasserstoffatom des eliminierten Methanols kann daher nicht, wie für Pyrogalloltrimethylether bewiesen, aus einer der anderen Methoxy-Gruppen stammen. Das Spektrum der an der Hydroxy-Gruppe deuterierten Verbindung des Trimethoxybenzylalkohols zeigt die Herkunft dieses vierten Wasserstoffes. Durch Rücktausch des Deuteriums im Einlaßsystem

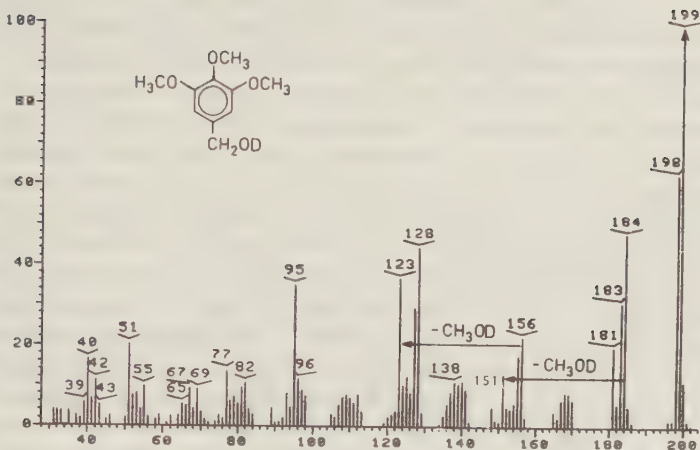
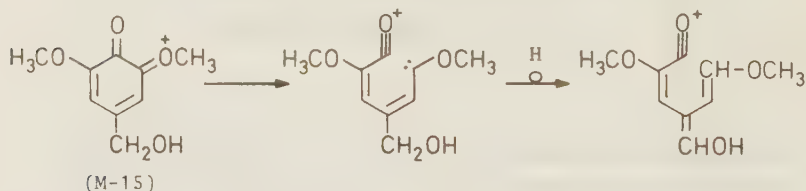


Abb. 4.14 Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol-OD

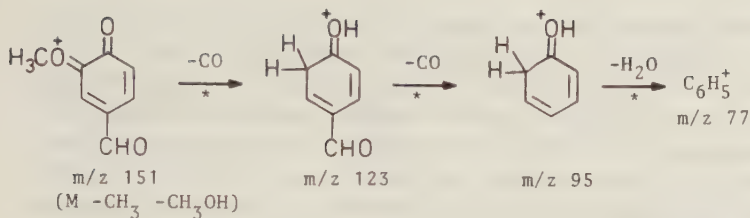
des Massenspektrometers mit der dort immer vorhandenen Restfeuchtigkeit ist das Spektrum nicht isotopenrein, so daß fast alle Ionen als Dubletts erscheinen. Die Ionen jedoch, bei denen das alkoholische Deuteriumatom an der Fragmentierung beteiligt ist, werden als Singulets abgebildet mit zudem erhöhter Intensität, da sie sowohl aus der deuterierten als auch aus der nicht deuterierten Verbindung stammen. Es sind dies im wesentlichen die folgenden Massenzahlen:

m/z 181	$C_{10}H_{13}O_3^+$	($M^+ - OH/OD$)
m/z 151	$C_8H_7O_3^+$	(m/z 183 - CH_3OH)
		(m/z 184 - CH_3OD)
m/z 123	$C_7H_7O_2^+$	(m/z 155 - CH_3OH)
		(m/z 156 - CH_3OD)
m/z 95	$C_6H_7O^+$	(m/z 123 - CO)
m/z 77	$C_6H_5^+$	(m/z 95 - H_2O)

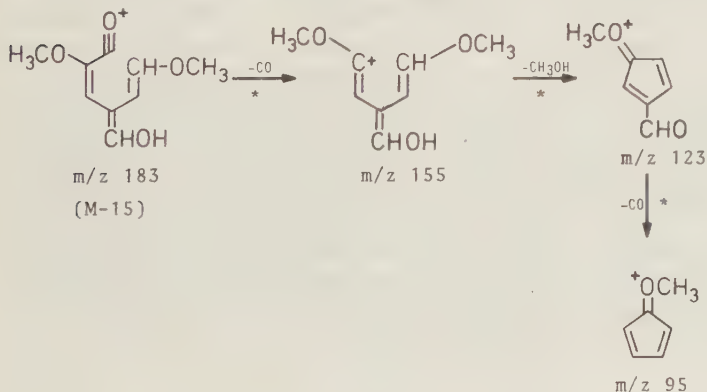
Der zur Bildung des Methanols benötigte vierte Wasserstoff stammt nach diesen Meßwerten eindeutig aus der Hydroxy-Gruppe der Verbindung. Nun ist jedoch eine direkte Wechselwirkung der Hydroxy-Gruppe über den Raum mit einer der Methoxy-Gruppen bei den bisher angenommenen Strukturen nicht denkbar. Eine getrennte Eliminierung eines OCH_3 - und eines H-Radikals erscheint wegen des damit verbundenen hohen Energieaufwandes im Vergleich mit der Bildung des stabilen Methanols unwahrscheinlich. Diese Überlegungen führten uns zu dem Schluß, daß bei der Fragmentierung von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol eine Öffnung des Benzolringes in Betracht gezogen werden muß. Die entstehende Radikalstelle kann bei dieser Verbindung durch die leicht beweglichen Benzylwasserstoffe abgesättigt werden. Demzufolge sollte bei dem Ion $(\text{M}-15)^+$ die folgende Umlagerung stattfinden:



Die letzte Struktur läßt eine Methanol-Abspaltung leicht möglich erscheinen, da durch Rotation um eine σ -Bindung eine Annäherung der Methoxy-Gruppe an den Hydroxy-Wasserstoff erreicht werden kann. Die Folgeionen lassen sich am besten deuten, wenn man nach der Methanol-Eliminierung einen erneuten Ringschluß annimmt. Es findet gemäß den metastabilen Übergängen zweimalige CO-Eliminierung statt, wobei die eine das zur Aldehyd-Gruppe gewordene Fragment der Benzylalkohol-Funktion betrifft und die andere die dritte, noch intakte Methoxy-Gruppe. Hierbei muß der Mechanismus von Florêncio et. al. (66) mit Erhaltung des Sechsrings angewandt werden, um die anschließende Abspaltung von Wasser zum Ion m/z 77 zu erklären:



Auch der andere Zweig der Fragmentierung, der sich vom Ion $(\text{M}-15)^+$ mit dem Verlust von CO fortsetzt, läßt sich nur interpretieren, wenn eine Ringöffnung vorausgesetzt wird. Das Ion $(\text{M} - \text{CH}_3 - \text{CO})^+$ spaltet ebenfalls Methanol mit einem Wasserstoff aus der Hydroxy-Gruppe des Moleküls ab. Eine geschlossene Fünf- oder Sechsring-Struktur kann nicht diesen Übergang erklären. Die Methanol-Abspaltung führt zum Ion der Masse 123, das mit CO-Eliminierung weiter nach $m/z \ 95$ fragmentiert. Diese Ionen sollten eine Fünfring-Struktur besitzen im Gegensatz zu den isobaren Ionen des ersten Fragmentierungszweiges. Legt man die Intensität der metastabilen Übergänge zugrunde, so sollte $m/z \ 123$ zu ca. 10-20 % aus der Sechsring-Struktur und zu 80-90 % aus der Fünfring-Struktur bestehen.



Einen Beweis für die zweifache Struktur von m/z 95 liefert die Peakkontur des metastabilen Überganges von m/z 123 nach m/z 95 in Abb. 4.15 a. Die Überlagerung der beiden Reaktionen führt zum völligen Verschwinden der zu erwartenden Einbuchtung ("dished top") des Signals. Im Vergleich dazu zeigt Abb. 4.15 b den Übergang von m/z 183 nach m/z 155 mit der bei der gegebenen Energiebreite (KER-Wert ca. 380 meV) typischen Verformung des Peaks.

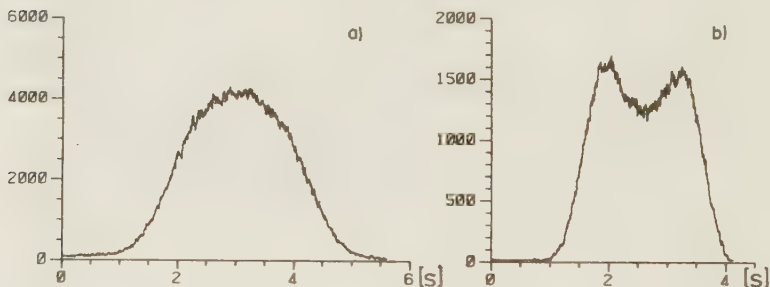
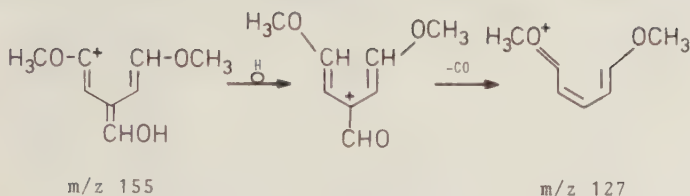


Abb. 4.15 Metastabile Übergänge von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol (Beschleunigungsspannungsscans)

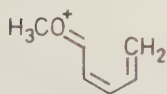
a) Übergang $123 \rightarrow 95$ (-CO); 59.2 V/s, $T_{50} = 560$ meV

b) Übergang $183 \rightarrow 155$ (-CO); 56.8 V/s, $T_{50} = 380$ meV

Nicht erwähnt wurde bisher das intensivste Fragmention im Spektrum, m/z 127 ($M - CH_3 - CO - CO$)⁺. Dieses Ion findet durch die postulierte Ringöffnung eine besonders plausible Erklärung für seine hohe Intensität, da nach einer Umlagerung des Ions m/z 155 mit Verschiebung des zweiten Benzylwasserstoffes und Abspaltung von Kohlenmonoxid aus der entstandenen Aldehyd-Gruppe eine Struktur entsteht, die eine ausgezeichnete Resonanzstabilisierung ermöglicht:



Bestätigt wird die Struktur durch die Folgeionen, die durch Abspaltung von Formaldehyd bzw. Dimethylether zu den Massenzahlen 97 und 81 führen:



$m/z \ 97$



$m/z \ 81$

Die Hauptfragmentierungen von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol mit den Strukturvorschlägen, die sich aus dem vorliegenden Datenmaterial für die Tochterionen ergeben, sind in Abb.4.16 dargestellt. Weiter unterstützt werden die vorgeschlagenen Abbaureaktionen durch Messungen an zwei weiteren, teildeutierten Verbindungen. Das Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxy- α - d_1 -benzylalkohol (Abb. 4.17 b) beweist durch die Verschiebung aller Ionen um eine Masseneinheit, daß bei den besprochenen Fragmentierungen die Benzylwasserstoffatome nicht an Abspaltungen beteiligt sind, sondern stets an dem Fragment verbleiben, das die positive Ladung trägt. Unsere These, daß die Benzylwasserstoffe bei den postulierten Ringöffnungen zur Absättigung der entstandenen Radikalstellen in den Ring hineinwandern, wird hierdurch bestätigt.

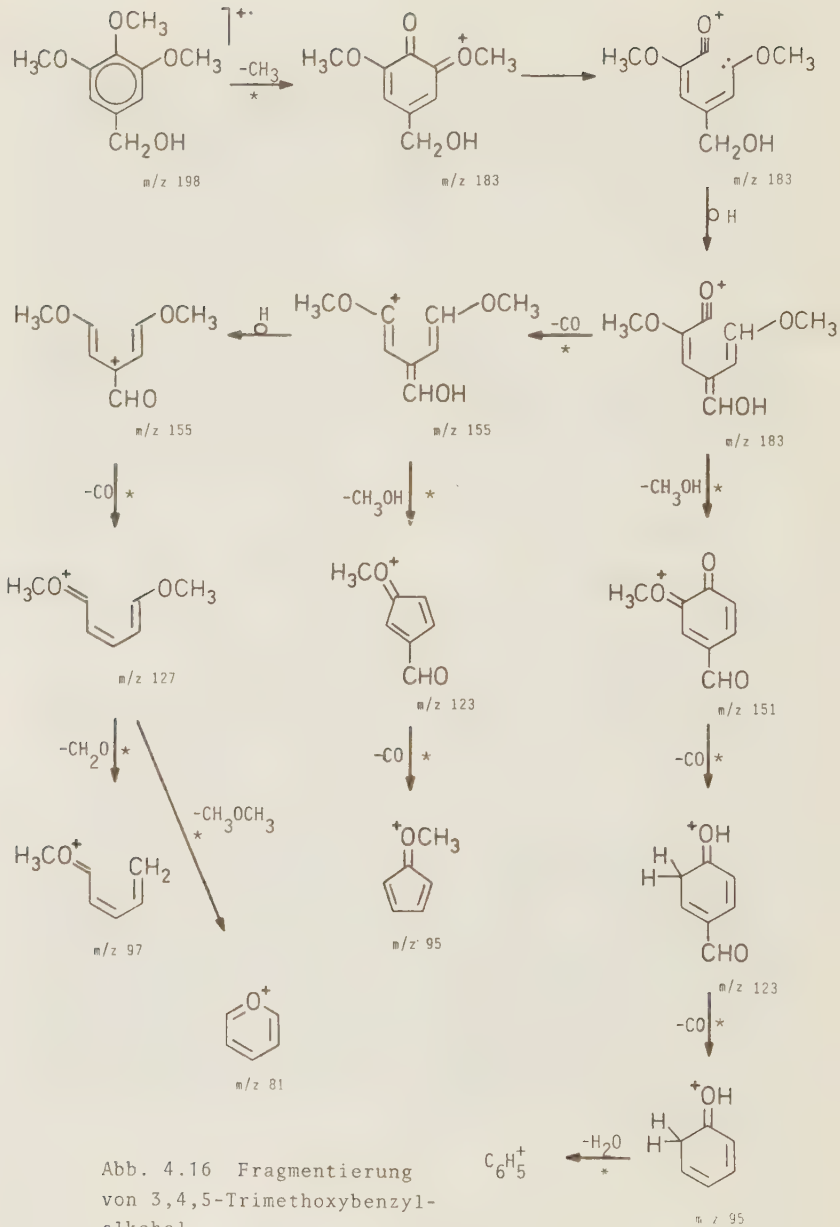


Abb. 4.16 Fragmentierung von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol

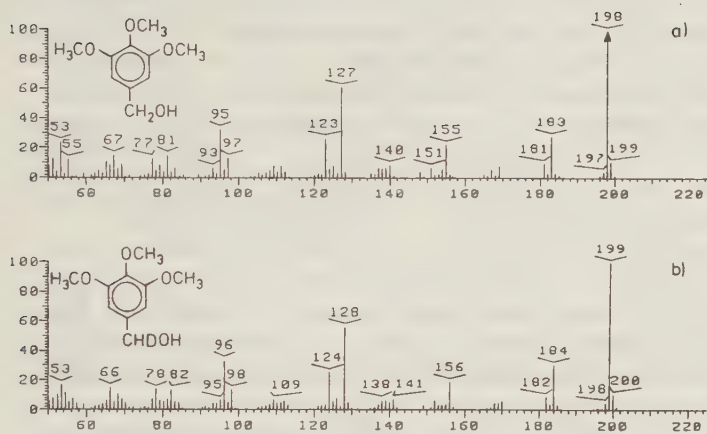


Abb. 4.17 Massenspektren von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol (a) und 3,4,5-Trimethoxy- α -d₁-benzylalkohol (b)

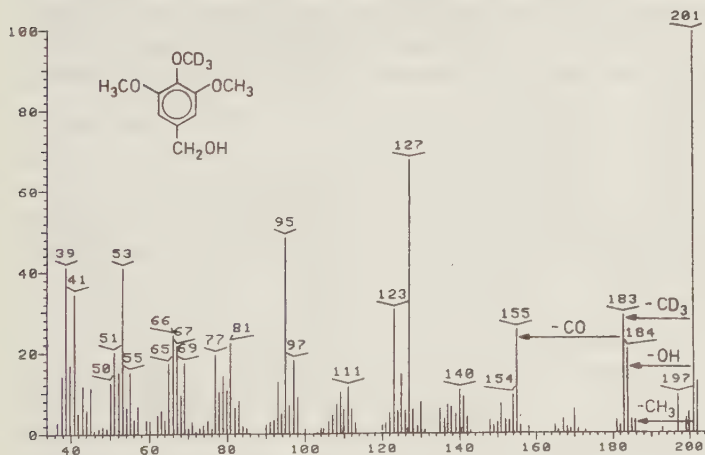


Abb. 4.18 Massenspektrum von 3,5-Dimethoxy-4-trideuteriomethoxybenzylalkohol

Das Massenspektrum von 3,5-Dimethoxy-4-trideuteromethoxybenzylalkohol (Abb. 4.18) gibt hierzu ergänzend Antwort auf die Frage, welche der drei Methoxy-Gruppen in den ersten Schritten der Fragmentierung betroffen sind. Es ergeben sich folgende Verhältnisse zwischen den Intensitäten der Reaktionen der äußeren CH_3 - und der mittleren CD_3 -Position:

(M - CH_3)	10 %	(M - CD_3)	90 %
(M - CH_3 - CO)	5 %	(M - CD_3 - CO)	95 %
(M - OCH_3)	63 %	(M - OCD_3)	37 %

Während die Eliminierung eines Methoxy-Radikals etwa nach dem statistischen Verhältnis von 2 : 1 für äußere und mittlere Position der Gruppe geschieht, zeigt die Methyl-Abspaltung eine deutliche Präferenz für die mittlere Methoxy-Gruppe. Im Gegensatz zu 1,2,3-Trimethoxybenzol verschiebt sich dieses Verhältnis bei der nachfolgenden CO-Eliminierung nicht zugunsten der äußeren Positionen, sondern sogar weiter in die andere Richtung. Dies stützt insbesondere die offenen Strukturen für die Ionen m/z 155 und m/z 127, da nur bei Abbau der mittleren Methoxy-Gruppe die für die Resonanzstabilisierung erforderliche Symmetrie der Ionen erreicht werden kann.

4.5 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan

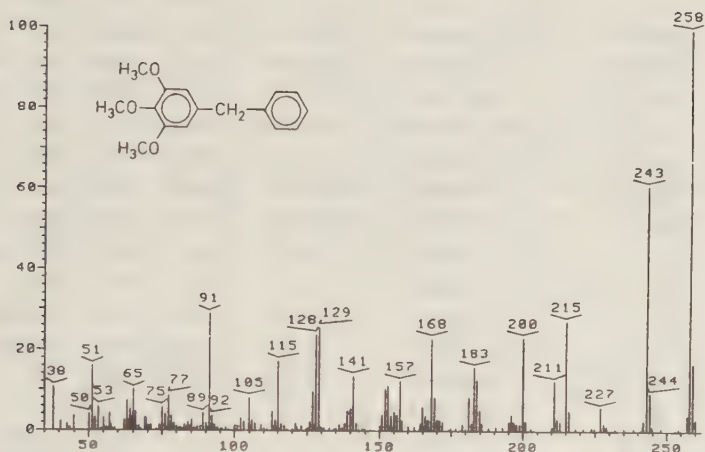


Abb. 4.19 Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan

Das Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan zeigt in den Primärzerfallsschritten Ähnlichkeit mit denen des vorher besprochenen Benzylalkohols. Auch hier läßt sich der Verlust eines Methoxy-Radikals aus dem Molekülion als Konkurrenzreaktion zur Abspaltung einer Methyl-Gruppe beobachten. Vom Ion $(M - CH_3)^+$ aus tritt ebenfalls eine Verzweigung des Reaktionsweges auf mit Eliminierung von Kohlenmonoxid oder Methanol. Anhand der metastabilen Übergänge (Tab. 4.3) kann das Schema der Abbildung 4.20 für die Fragmentierung im oberen Massenbereich aufgestellt werden.

Metastab. Peak m^*	Verhältnis E/E_0	relative Intensität	Übergang	Abspal- tung von
228.8	0.94262	100.0	258 $\rightarrow$ 243	CH_3
197.5	0.93261	2.8	227 $\rightarrow$ 212	CH_3
185.7	0.93008	20.4	215 $\rightarrow$ 200	CH_3
170.3	0.92185	5.1	200 $\rightarrow$ 185	CH_3
153.5	0.91509	8.1	183 $\rightarrow$ 168	CH_3
189.8	0.88381	24.8	243 $\rightarrow$ 215	CO
199.0	0.87763	8.0	258 $\rightarrow$ 227	OCH_3
158.9	0.86796	4.6	211 $\rightarrow$ 183	CO
182.7	0.86738	10.6	243 $\rightarrow$ 211	CH_3OH
157.5	0.85563	2.8	215 $\rightarrow$ 184	OCH_3
155.9	0.85116	5.9	215 $\rightarrow$ 183	CH_3OH
141.3	0.84171	2.2	200 $\rightarrow$ 168	CH_3OH
116.3	0.83150	3.0	168 $\rightarrow$ 140	CO
106.0	0.82214	3.7	157 $\rightarrow$ 129	CO
139.5	0.75814	2.8	243 $\rightarrow$ 184	$\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$
137.9	0.75352	4.2	243 $\rightarrow$ 183	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$

Tab. 4.3 Metastabile Übergänge im oberen Massenbereich von 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan

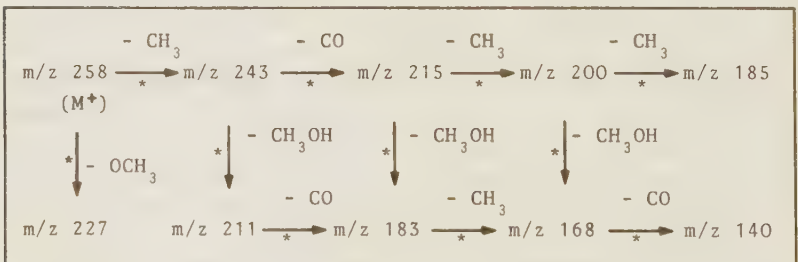


Abb. 4.20 Fragmentierung von 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan im oberen Massenbereich gemäß den Messungen der Hochauflösung und der metastabilen Übergänge

Es fällt auf, daß eine Methanol-Abspaltung von mehreren Stufen des Zerfallsweges aus möglich ist. Die Vermutung liegt nahe, daß zwei voneinander unabhängige Reaktionen an verschiedenen Reaktionszentren ablaufen.

Hauptziel unserer Untersuchungen bei dieser Substanz war wie bei den anderen Trimethoxy-Verbindungen die Aufklärung der Herkunft des vierten Wasserstoffatoms des abgespaltenen Methanols. Die Deuterium-Markierung der Benzylwasserstoff-Position zeigte wie bei 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol im Massenspektrum die Verschiebung aller Ionen um eine Masse (s. Abb. 4.21). Diese Position ist demnach an der Reaktion unbeteiligt.

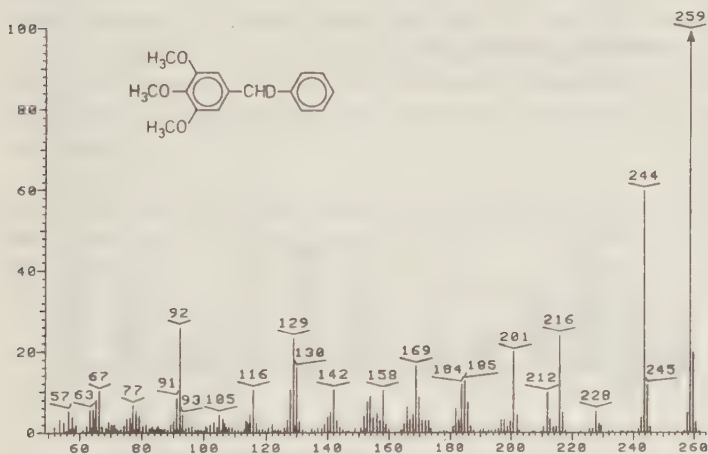


Abb. 4.21 Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxy-diphenyl-deutero-methan

Eine Deuterierung des zweiten Ringes im Molekül führte jedoch zu dem überraschenden Ergebnis, daß bei der Bildung des Methanols ein Wasserstoffatom aus dem anderen Ring beteiligt

ist. Das Spektrum (Abb. 4.22) zeigt trotz unvollständiger Deuterierung der Verbindung eindeutig die Verschiebung um 4 Masseneinheiten bei den durch Verlust von Methanol gebildeten Folgeionen (m/z 211 $\rightarrow$ m/z 215; m/z 168 $\rightarrow$ m/z 172), während die übrigen Ionen die erwartete Verschiebung um 5 Masseneinheiten aufweisen. Lediglich bei dem Ion m/z 183 der nicht deuterierten Verbindung ($M - \text{CH}_3 - \text{CO} - \text{CH}_3\text{OH}$)⁺ ist keine Aussage möglich, da es hier im Bereich des verschobenen Ions der deuterierten Verbindung zu einer Überlagerung mit anderen Fragmentierungen kommt.

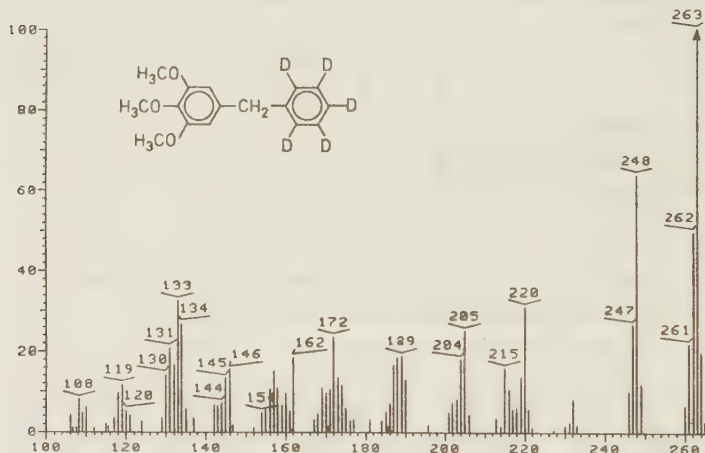
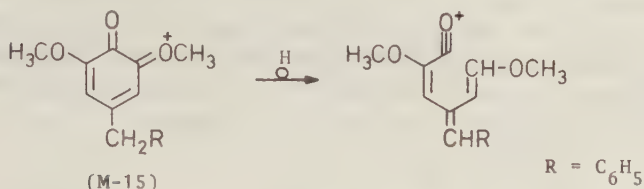


Abb. 4.22 Massenspektrum von 3,4,5-Trimethoxyphenyl-2',3',4',5',6'-pentadeuterophenyl-methan

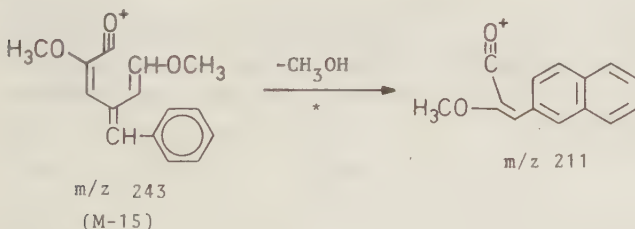
Für die Interpretation der Methanol-Abspaltung muß wieder von einer Öffnung des Sechsrings ausgegangen werden, da eine Annäherung einer Methoxy-Gruppe an die Protonen des zweiten Ringes anders nicht erreicht werden kann. Die entstehende Radikalposition an der Öffnungsstelle kann wie bei

dem entsprechenden Benzylalkohol durch Verschiebung eines Benzylwasserstoffes abgesättigt werden:



Schwieriger erscheint die Formulierung einer stabilen Struktur nach der CH_3OH -Eliminierung, da durch diese Reaktion eine Radikalstelle im zweiten Ring des Ions entsteht. Eine Erweiterung dieses Ringes zum Siebenring mit einer Tropylium-Struktur ist wenig plausibel, da in diesem Falle die positive Ladung in diesem Ring lokalisiert sein müßte. Dem widerspricht, daß sich das aktive Zentrum der weiteren Fragmentierung (Abbau der Methoxy-Gruppen) im anderen Ring befindet.

Eine günstige Stabilisierung ergibt sich unserer Ansicht nach durch die Bildung einer Naphthalin-Struktur für m/z 211:



Der weitere Abbau der Seitenkette dieser Struktur mit Eliminierung von CO und CH_3 zu m/z 183 und m/z 168 entspricht den im Metastabilen-Spektrum gefundenen Übergängen. Die für die beiden letzteren Ionen vorgeschlagenen Strukturen lassen sich auch von den Ionen m/z 215 bzw. m/z 200 des anderen

Fragmentierungszweiges durch Methanol-Abspaltung erreichen, wenn für die Mutterionen jeweils offenkettige Strukturen angenommen werden. Für diese Ionen muß jedoch daneben auch die Existenz der entsprechenden Fünfring-Strukturen angenommen werden, da der metastabile Übergang für die CO-Eliminierung $m/z\ 243 \rightarrow m/z\ 215$ (Abb. 4.23) die Überlagerung mindestens zweier verschiedener Reaktionen anzeigt.

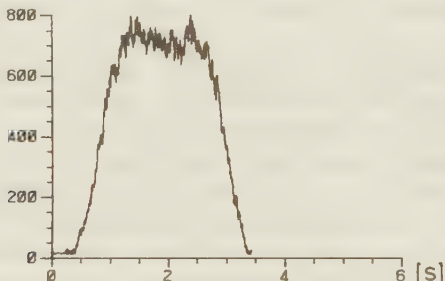


Abb. 4.23 Metastabiler Übergang $m/z\ 243 \rightarrow m/z\ 215$ von 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan;
Beschleunigungsspannungsscan mit 57.8 V/s

Das Schema der Abbildung 4.24 zeigt den Fragmentierungsverlauf von 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan mit den Ionenstrukturen, die sich aus der Diskussion des vorliegenden Datenmaterials ergeben.

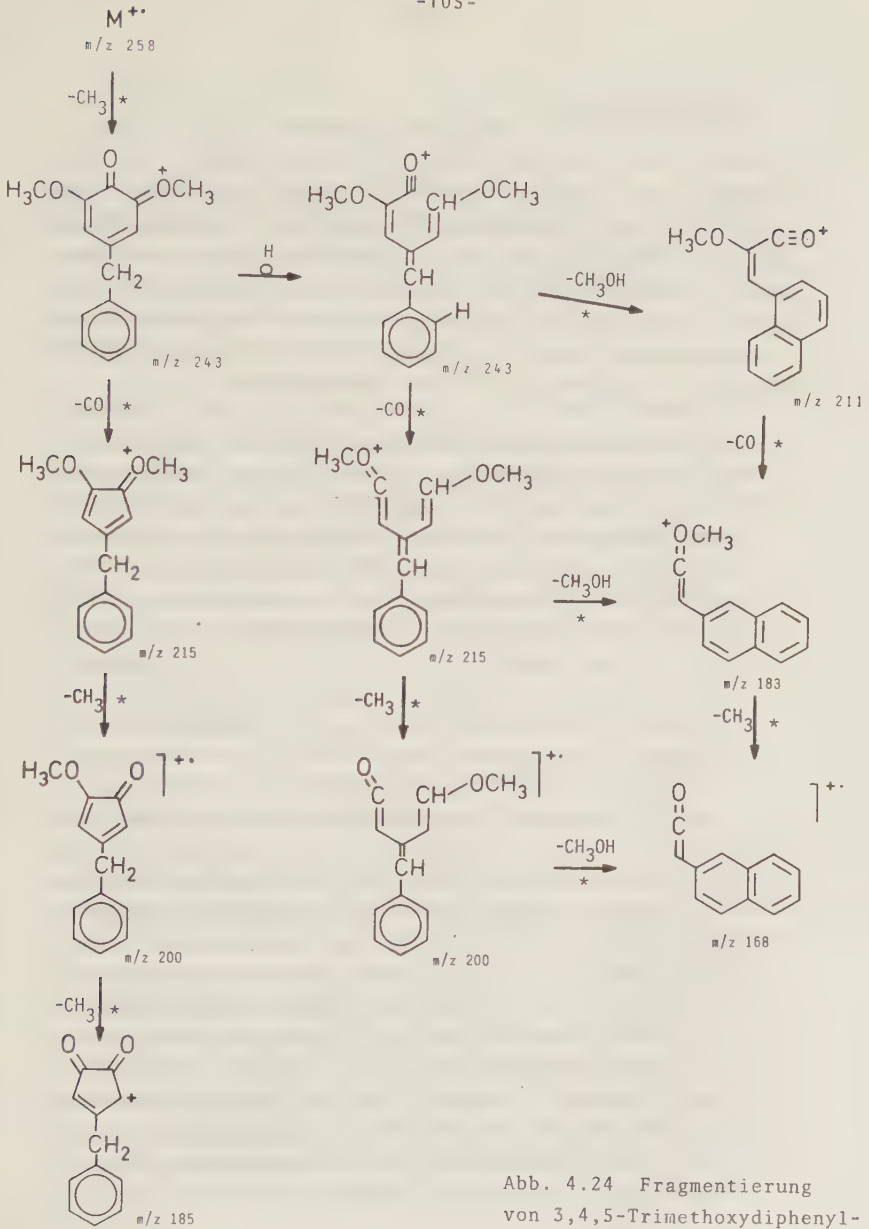


Abb. 4.24 Fragmentierung von 3,4,5-Trimethoxydiphenylmethan im oberen Massenbereich

5. Zusammenfassung

Ausgangsposition dieser Arbeit war die häufig unzureichende Genauigkeit der Massenfeinbestimmung mit hochauflösenden Massenspektrometern, die in vielen Fällen keine zweifelsfreien Aussagen über die Elementarzusammensetzung von Ionen zuläßt. Ziel war es, diesem Mangel durch eine verbesserte, rechnergestützte Auswertung des hochaufgelösten Spektrums zu begegnen. Hierzu wurden folgende Lösungen erarbeitet:

1. Ein Computerprogramm zur Vorhersage der Elemente, die in einem hochaufgelösten Massenspektrum zu erwarten sind, wurde erstellt. Dem Programm liegt ein neuartiges Verfahren zugrunde, bei dem die Massendifferenzen zwischen den Ionen eines Massenspektrums betrachtet werden. Es ist unabhängig von der Substanzklasse, der die gemessene Verbindung angehört. Das Programm berücksichtigt die Elemente C, H, N, O, S, P, F, Cl, Br und J. Die Ergebnisse in der Anwendung übertreffen die mit Pattern-recognition-Verfahren an niederaufgelösten Massenspektren erreichten.
2. Für die Berechnung der Elementarzusammensetzungen der Peaks in einem hochaufgelösten Massenspektrum wurde ein Programm entwickelt, das durch weitgehende Reduktion der Meßdaten dem Anwender die weitergehende Auswertung erleichtert. Durch die Einbeziehung von Valenzbetrachtungen und Isotopenpattern-Vergleich werden die Elementarkombinationen, die bei der Massenberechnung im Toleranzbereich liegen, erheblich reduziert. Für jede zu einem Peak gefundene Elementarzusammensetzung wird ein Bewertungsindex errechnet, der die Übereinstimmung mit den Meßdaten (Massenabweichung, Isotopenmuster) wiedergibt. Das Programm ermöglicht außerdem eine automatische Identifizierung des Moleküls.

In einem zweiten, anwendungsbezogenen Teil dieser Arbeit wurde die Fragmentierung von 1,2,3-Trimethoxybenzol-Verbindungen untersucht. Hierzu wurden einerseits verschiedene massenspektrometrische Meßtechniken eingesetzt, wie GC/MS, Hochauflösung und Messungen an metastabilen Ionen, und zum anderen die Methode der Isotopenmarkierung bestimmter Positionen im Molekül angewandt. Die Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Bei der Stammverbindung, dem 1,2,3-Trimethoxybenzol, beginnt die Fragmentierung überwiegend mit der Abspaltung eines Methyl-Radikals aus der mittleren Methoxy-Gruppe. Für die sich anschließende Eliminierung von Kohlenmonoxid wurden Hinweise gefunden, die auf eine Erhaltung der Sechsringstruktur bei dem entstehenden Ion schließen lassen. Daneben wurde im Fragmentierungsverlauf eine ungewöhnliche Abspaltung dreier Radikale hintereinander beobachtet.
2. Bei den meisten der untersuchten substituierten 1,2,3-Trimethoxybenzol-Verbindungen ergaben sich abgesehen von Intensitätsverschiebungen nur geringe Abweichungen im Fragmentierungsverlauf gegenüber der Stammverbindung.
3. Ein Einfluß auf das Fragmentierungsverhalten konnte bei Substituenten des Typs $-\text{CH}_2\text{R}$ beobachtet werden. Näher untersucht wurden die Verbindungen mit $\text{R} = \text{OH}$ (1,2,3-Trimethoxybenzylalkohol) und $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$ (3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan). Bei den Massenspektren dieser Verbindungen fiel besonders eine Eliminierung von Methanol an verschiedenen Stellen des Fragmentierungsverlaufs auf. Es konnte mit Hilfe von Isotopenmarkierungen und Betrachtung der sterischen Gegebenheiten gezeigt werden, daß bei den Ausgangsionen eine Öffnung des Benzolringes mit einer Verschiebung mehrerer Wasserstoffatome vorangeht.

Im Falle des 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethans führt diese Methanol-Eliminierung zu Ionen mit einer Naphthalin-Struktur. Bewirkt wird die von den anderen 1,2,3-Trimethoxybenzol-Verbindungen abweichende Fragmentierung durch die aktivierte Benzyl-Gruppe, die durch die Abgabe eines Wasserstoffes für die Absättigung der bei der Ringöffnung entstehenden Radikalstelle sorgt.

6. Literaturverzeichnis

- (1) J.H. Beynon, in J.D. Waldron (Hrsg.),
Advances in Mass Spectrometry
Vol. 1, Pergamon Press, New York 1959
- (2) B. Pattersson, R. Ryhage,
Ark. Kemi 26, 293 (1967)
- (3) L.R. Crawford, J.D. Morrison,
Anal. Chem. 40, 1464 (1968)
- (4) W. Strogies, H. Tengicki, L. Vogel,
H. Waldschmidt, K. Wittke,
Z. Anal. Chem. 245, 70 (1969)
- (5) B.A. Knock, I.C. Smith, D.E. Wright, R.G. Ridley,
Anal. Chem. 42, 1516 (1970)
- (6) H.S. Hertz, R.A. Hites, K. Biemann,
Anal. Chem. 43, 681 (1971)
- (7) L.E. Wangen, W.S. Woodward, T.L. Isenhour,
Anal. Chem. 43, 1605 (1971)
- (8) S.L. Grotch,
Anal. Chem. 43, 1362 (1971)
- (9) F.W. McLafferty, R.H. Hertel, R.D. Villwock,
Org. Mass Spectrom. 9, 690 (1974)
- (10) G.M. Pesyna, R. Venkataraghavan, H.E. Dayringer,
F.W. McLafferty,
Anal. Chem. 48, 1362 (1976)

- (11) In Ki Mun, R. Venkataraghavan, F.W. McLafferty,
Anal. Chem. 49, 1723 (1977)
- (12) F.P. Abramson,
Anal. Chem. 47, 45 (1975)
- (13) N.J. Nilsson,
Learning Machines
McGraw-Hill, New York 1965
- (14) B.R. Kowalski, C.F. Bender,
Anal. Chem. 44, 1405 (1972)
- (15) T.L. Isenhour, P.C. Jurs,
Anal. Chem. 43, 20A (1971)
- (16) J.R. Chapman,
Computers in Mass Spectrometry
Academic Press, London 1978
- (17) K. Varmuza,
Anal. Chim. Acta 122, 227 (1980)
- (18) K. Varmuza,
Pattern Recognition in Chemistry
Springer-Verlag, Berlin 1980
- (19) M. Barber, P. Powers, M.J. Wallington,
W.A. Wolstenholme
Nature (London) 212, 784 (1966)
- (20) L.R. Crawford, J.D. Morrison,
Anal. Chem. 41, 994 (1969)
- (21) J. Lederberg, G.L. Sutherland, B.G. Buchanan,
E.A. Feigenbaum, A.M. Duffield, C. Djerassi,
J. Am. Chem. Soc. 91, 2973 (1969)

- (22) A.M. Duffield, A.V. Robertson, C. Djerassi
B.G. Buchanan, G.L. Sutherland, E.A. Feigenbaum
J. Lederberg,
J. Am. Chem. Soc. 91, 2977 (1969)
- (23) G. Schroll, A.M. Duffield, C. Djerassi,
B.G. Buchanan, G.L. Sutherland, E.A. Feigenbaum,
J. Lederberg,
J. Am. Chem. Soc. 91, 7440 (1969)
- (24) A. Buchs, A.M. Duffield, G. Schroll, C. Djerassi
A.B. Delfino, B.G. Buchanan, G.L. Sutherland,
E.A. Feigenbaum, J. Lederberg,
J. Am. Chem. Soc. 92, 6831 (1970)
- (25) K.-S. Kwok, R. Venkataraghavaan, F.W. McLafferty,
J. Am. Chem. Soc. 95, 4185 (1973)
- (26) H.E. Dayringer, G.M. Pesyna, R. Venkataraghavan,
F.W. McLafferty,
Org. Mass Spectrom. 11, 529 (1976)
- (27) H.E. Dayringer, F.W. McLafferty,
Org. Mass Spectrom. 11, 543 (1976)
- (28) H.E. Dayringer, F.W. McLafferty,
Org. Mass Spectrom. 11, 895 (1976)
- (29) H.E. Dayringer, F.W. McLafferty,
Org. Mass Spectrom. 12, 53 (1977)
- (30) F.W. McLafferty, R. Venkataraghavan,
J. Chromatogr. Sci. 17, 24 (1979)

- (31) D.H. Smith, B.G. Buchanan, W.C. White,
E.A. Feigenbaum, J. Lederberg, C. Djerassi,
Tetrahedron 29, 3117 (1973)

- (32) R.G. Dromey, B.G. Buchanan, D.H. Smith,
J. Lederberg, C. Djerassi,
J. Org. Chem. 40, 770 (1975)

- (33) In Ki Mun, R. Venkataraghavan, F.W. McLafferty,
Anal. Chem. 53, 179 (1981)

- (34) E. Fahr, E. Büttner, W. Dindorf, Jörn Müller,
Fresenius Z. Anal. Chem. 294, 366 (1979)

- (35) IUPAC; Commission on Atomic Weights and Isotopic
Abundances,
Pure Appl. Chem. 55, 1101 (1983)

- (36) K. Varmuza, H. Rotter, P. Krenmayr,
Chromatographia 7, 522 (1974)

- (37) P.C. Jurs, B.R. Kowalski, T.L. Isenhour,
Anal. Chem. 41, 21 (1969)

- (38) R.G. Dromey, G.T. Foyster,
Anal. Chem. 52, 394 (1980)

- (39) P.E. Kavanagh,
Org. Mass Spectrom. 15, 334 (1980)

- (40) J.L. Margrave, R.B. Polansky,
J. Chem. Educ. 39, 335 (1962)

- (41) R.M. Hilmer, J.W. Taylor,
Anal. Chem. 46, 1038 (1974)

- (42) K. Biemann, W. McMurray,
Tetrahedron Lett. 11, 647 (1965)
- (43) M. Karni, A. Mandelbaum,
Org. Mass Spectrom. 15, 53 (1980)
- (44) C.S. Barnes, J.L. Occolowitz,
Aust. J. Chem. 16, 219 (1963)
- (45) Z. Pelah, J.M. Wilson, M. Ohashi,
H. Budzikiewicz, C. Djerassi,
Tetrahedron 19, 2233 (1963)
- (46) F.W. McLafferty,
Anal. Chem. 31, 2072 (1959)
- (47) F. Meyer, A.G. Harrison,
Can. J. Chem. 42, 2008 (1964)
- (48) J.H. Bowie, S.-O. Lawesson, J.O. Madson,
G. Schroll, D.H. Williams,
J. Chem. Soc. (B) 1966, 951
- (49) C.S. Barnes, D.J. Collins, J.J. Hobbs,
P.I. Mortimer, W.H.F. Sasse,
Aust. J. Chem. 20, 699 (1967)
- (50) J.A. Ballantine, C.T. Pillinger,
Org. Mass Spectrom. 1, 447 (1968)
- (51) F. Bottino, R. Fradullo, S. Pappalardo,
Org. Mass Spectrom. 16, 7 (1981)
- (52) T. Aczel, H.E. Lumpkin,
Anal. Chem. 33, 386 (1961)

- (53) D.V. Ramana, N. Sundaram,
Org. Mass Spectrom. 15, 220 (1980)
- (54) D.L. McGillivray, G.A. Poulton,
Org. Mass Spectrom. 13, 296 (1978)
- (55) C. Verchère, M. Hocquaux, C. Viel,
Org. Mass Spectrom. 13, 556 (1978)
- (56) M. Mintas, K. Jakopcic, L. Klasinc, H. Güsten,
Org. Mass Spectrom. 12, 544 (1977)
- (57) V. Kováčik, J. Škamla, D. Joniak, B. Košíková,
Chem. Ber. 102, 1513 (1969)
- (58) C.B. Thomas,
J. Chem. Soc (B) 1970, 430
- (59) M.J. Lacey, C.G. McDonald, J.S. Shannon,
Org. Mass Spectrom. 5, 1391 (1971)
- (60) M.J. Lacey, C.G. McDonald,
Org. Mass Spectrom. 14, 465 (1979)
- (61) R.G. Cooks, M. Bertrand, M.E. Rennekamp, D.W. Setser,
J. Am. Chem. Soc. 95, 1732 (1973)
- (62) F.W. McLafferty, M.M. Bursey,
J. Org. Chem. 33, 124 (1968)
- (63) P. Brown,
Org. Mass Spectrom. 4, 519 (1970)
- (64) H. Florêncio, P.C. Vijfhuizen, W. Heerma,
G. Dijkstra,
Org. Mass Spectrom. 14, 198 (1979)

- (65) H. Florêncio, W. Heerma, G. Dijkstra,
Org. Mass Spectrom. 12, 269 (1977)
- (66) H. Florêncio, W. Heerma, P.C. Vijfhuizen,
Org. Mass Spectrom. 13, 735 (1978)
- (67) Privatmitteilung Prof. Dr. N. Nibbering,
Universität Amsterdam
- (68) Organikum (Autorenkollektiv),
VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften
Berlin 1975
- (69) H. Bendig, Vertiefungsarbeit, Bochum 1983
- (70) K. Kohlschütter, Dissertation, Bochum 1984
- (71) Z.V.I. Zaretskii,
Org. Mass Spectrom. 16, 372 (1981)
- (72) R.G. Cooks, J.H. Beynon, R.M. Caprioli, G.R. Lester,
Metastable Ions
Elsevier, Amsterdam 1973

7. Anhang

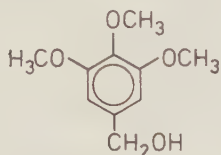
Anhang A Programmherstellung

Zur Erstellung der in Kapitel 3 beschriebenen Programme stand ein für Anwendungen in der Massenspektrometrie konzipiertes Datensystem "SS200" der Firma Varian MAT (jetzt Finnigan MAT), Bremen, zur Verfügung. Das System enthält als Hauptrechner einen PDP11/34-Minicomputer mit 128 K Worten Speicher und Gleitkommaprozessor. Als Sekundärspeicher dienen 2 CDC-Hawk-Plattenlaufwerke mit insgesamt 20 MByte Speicherkapazität. Die Programme sind in FORTRAN IV geschrieben. Die für das Testen der Programme benutzten hochaufgelösten Massenspektren lagen im Datenformat des SS200-Systems vor.

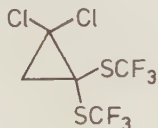
Die im Kapitel 3 beschriebenen Programme ELTEST (Ermittlung der Elemente aus dem Massenspektrum) und ELCOM (Berechnung des Spektrums) sind in einem gesonderten Anhang zusammengefaßt und stehen am Lehrstuhl für Analytische Chemie der Ruhr-Universität Bochum zur Verfügung.

Anhang B Namen und Strukturen der Verbindungen I - VII*

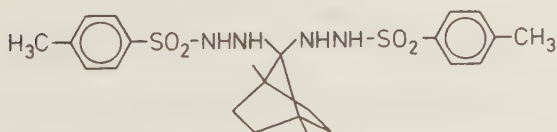
I) 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol



II) 1,1-Dichlor-2,2-bis-(trifluormethylmercapto)-cyclopropan

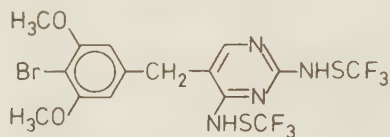


III) 1,4-Dimethyl-bicyclo[2.2.1]heptyl-7,7-di-(p-toluolsulfo)-hydrazid

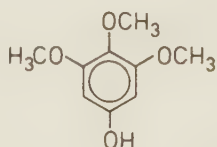


* Für die Erlaubnis zur Veröffentlichung der Massenspektren der Verbindungen II, IV und VII danke ich Herrn Prof. Dr. mult. A. Haas, Lehrstuhl für Anorganische Chemie II der Ruhr-Universität Bochum, desgleichen für das Massenspektrum der Verbindung III Herrn Prof. Dr. W. Kirmse, Lehrstuhl für Organische Chemie II, Ruhr-Universität Bochum.

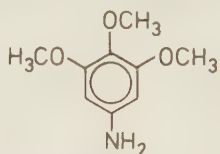
IV) 5-(2,4-diamino-N,N'-bis(trifluoromethylmercapto))-pyrimidyl-4-brom-3,5-dimethoxy -phenyl-methan



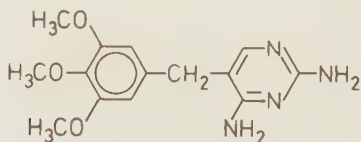
V) 3,4,5-Trimethoxyphenol



VI) 3,4,5-Trimethoxyanilin



VII) 5-(2,4-Diamino)-pyrimidyl-3,4,5-trimethoxyphenyl-methan



Anhang C Darstellung der Trimethoxybenzol-Verbindungen

Die Darstellung der in Kapitel 4 genannten Trimethoxybenzol-Verbindungen erfolgte, sofern nicht im Handel erhältlich, über gängige Synthesen der Organische Chemie (68).

- 1.) Alle Verbindungen mit perdeuterierten Methoxy-Gruppen wurden über eine Williamson-Synthese aus dem entsprechenden Phenol und Trideuteromethyliodid hergestellt.

Hierzu wurde das in Ethanol gelöste Phenol mit der entsprechenden Menge Natriumethanolat und Trideuteromethyliodid 5 Std. am Rückfluß erhitzt. Nach Abdestillieren des Ethanols wurde der Rückstand mit 5%iger Natronlauge behandelt und das Produkt mit Diethylether extrahiert.

Auf diese Weise wurden die folgenden Verbindungen hergestellt:

- a) 2,3-Dimethoxy-1-trideuteromethoxybenzol
(aus 2,3-Dimethoxyphenol)
 - b) 1,3-Dimethoxy-2-trideuteromethoxybenzol
(aus 2,6-Dimethoxyphenol)
 - c) 1,2,3-Tris-(trideuteromethoxy)-benzol
(aus Pyrogallol)
 - d) 5-Trideuteromethoxy-1,2,3-trimethoxybenzol
(aus 3,4,5-Trimethoxyphenol)
 - e) 3,5-Dimethoxy-4-trideuteromethoxy-benzylalkohol
(aus 3,5-Dimethoxy-4-hydroxy-benzylalkohol)
- 2.) 3,4,5-Tris-(trideuteromethoxy)-benzylalkohol

Gallussäure (sicc.) wurde mit Hexadeuterodimethylsul-

fat zur Tris-(trideuteromethoxy)-Verbindung umgesetzt und anschließend mit Lithiumaluminiumhydrid zum entsprechenden Alkohol reduziert.

3.) 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol-OD

Die undeuterierte Verbindung wurde in einem Verdampfungstiegel für die Massenspektrometrie mehrmals mit Tetradeuteromethanol versetzt und erwärmt. Das Massenspektrum wurde sofort anschließend aufgenommen.

4.) 3,4,5-Trimethoxy- α -d₁-benzylalkohol

3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd wurde mit Natriumborodeuterid in einem Methanol/Wasser-Gemisch reduziert und das Produkt mit Chloroform extrahiert.

5.) 3,4,5-Trimethoxy-diphenylmethan

Aus 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol, gelöst in Ether, wurde durch Schütteln mit einem HBr/H₂O-Gemisch das entsprechende Benzylbromid hergestellt. Eine Grignard-Reaktion mit Phenylmagnesiumbromid lieferte das Produkt.

6.) 3,4,5-Trimethoxyphenyl-2',3',4',5',6'-pentadeutero-phenyl-methan

3,4,5-Trimethoxybenzylbromid wurde in Hexadeuterobenzol mit Aluminiumtrichlorid in einer Friedel-Crafts-Alkylierung umgesetzt.

Anhang D Meßbedingungen

D1 Niederaufgelöste Massenspektren

Die in Kapitel 4 abgebildeten Massenspektren wurden in der Niederauflösung über eine GC/MS-Kopplung gemessen.

Gaschromatograph: Perkin-Elmer F20FE (Bodenseewerk, Überlingen)

Trägergas: Helium

Säule: Kapillarsäule 15 m OV 17

Ofentemperatur: 120 bis 250 ° C

Kopplung: offene Kopplung (69)

Massenspektrometer: CH7 (Varian MAT, Bremen)
einfachfokussierendes Sektorfeldgerät

Ionenquellentemperatur: 200 ° C

Elektronenenergie: 70 eV

Kathodenstrom: 0.1 mA

Beschleunigungsspannung: 3 kV

Auflösungsvermögen: 1400 (10 % Tal)

Scanrate: 1 s/ Dekade

D2 Hochaufgelöste Massenspektren

Alle im Kapitel 4 dieser Arbeit genannten Trimethoxybenzolverbindungen wurden parallel zur Niederauflösung auch in der Hochauflösung gemessen.

Massenspektrometer: MAT 731 (Varian MAT, Bremen)
doppelfokussierendes Sektorfeldgerät
mit Mattauch-Herzog-Geometrie

Ionenquellentemperatur: 200 °C

Elektronenenergie: 70 eV

Kathodenstrom: 0.4 mA

Beschleunigungsspannung: 8 kV

Auflösung: 10000 (10 % Tal)

Scanrate: 16 s/ Dekade

Als Referenzsubstanz wurde PFK (Perfluorkerosin) gleichzeitig mit der zu messenden Substanz gemessen. Die Registrierung der Spektren und die Hochauflösungsmassenberechnung erfolgte mit dem Datensystem SS200 (s. Anhang A). Die erreichte durchschnittliche Genauigkeit lag bei 1-2 mmu.

D4 Metastabile Übergänge *

Die metastabilen Übergänge von drei im Kapitel 4 genannten Verbindungen wurden am Massenspektrometer MAT 731 durch vollständige Abtastung der B-E-Ebene mit Magnetfeldscans bei stufenweise variiertter Spannung des elektrischen Sektors im ersten feldfreien Raum registriert. Die Spannung des elektrischen Sektors wurde durch eine digitale Steuerung (70) in Schritten von 1 V ausgehend von einem Anfangswert von ca. 500 V herabgesetzt.

Aperturblende: Stufe 2

Energieblende: Stufe 2

z-Blenden: Stufe 1

Massenauflösung: 1000

Energieauflösung: 40

Scanrate: 4 s/ Dekade

* Für viele Ratschläge zur Durchführung dieser Messungen danke ich Herrn V. Grau

Die Berechnung der metastabilen Übergänge erfolgte durch ein Auswerteprogramm aus der gemessenen Masse und dem Verhältnis E/E_0 zwischen der Spannung des elektrischen Sektors in dem Spektrum, in dem der Peak sein Maximum erreichte, und der Ausgangsspannung.

D4 KER-Messungen

Die Messung der freigesetzten kinetischen Energie für einige der in Kapitel 4 genannten metastabilen Übergänge erfolgte am Massenspektrometer MAT 731 durch einen Beschleunigungsspannungsscan. Ähnlich einer von Zaretskii angegebenen Methode (71) für ein Gerät desselben Typs wurde die Beschleunigungsspannung über eine im Gerät eingebaute analoge Steuerung linear variiert. Der durchlaufene Bereich der Beschleunigungsspannung lag zwischen 7 und 9 kV. Die Spannung des elektrischen Sektors wurde entsprechend der Durchlaßbedingung über ein externes Hochspannungsgerät eingestellt (für stabiles und metastabiles Tocherion getrennt). Die Registrierung erfolgte durch Acquisition der Rohdaten über das Datensystem SS 200.

Aperturblende: Stufe 3

Energieblende: Stufe 3

z-Blenden: Stufe 1

Massenauflösung: 1000

Energieauflösung: 240

Scanrate: ca. 58 V/s

Sample-Rate: 300 Hz

Die Auswertung wurde manuell an den geplotteten Peakkonturen vorgenommen. Die Korrektur für den prozentualen Anteil der Breite des stabilen Tochterions erfolgte nach der von Beynon (72) angegebenen Methode über die Quadrate der Peakbreiten.

Die in der Veröffentlichung (71) genannten Resultate konnten jedoch weder hinsichtlich der Richtigkeit noch in Bezug auf die Genauigkeit erreicht werden, sodaß die in dieser Arbeit aufgeführten KER-Werte als Anhaltspunkte zu sehen sind.

Lebenslauf

10.2.1955 Geboren in Wattenscheid / NRW

 Eltern: Paul Sollböhmer (Kaufmann) und
 Maria Sollböhmer, geb. Diese

1961-1965 Volksschule (Gertrudis- und Canisiusschule
 in Wattenscheid)

1965 Wechsel zum Staatlichen Gymnasium Bochum

25.5.1973 Abitur

1.10.1973 Beginn des Chemiestudiums an der Ruhr-
 Universität Bochum

12.10.76 Diplom-Vorprüfung

1.5.1979 Diplomarbeit am Lehrstuhl für Analytische
- 20.4.1980 Chemie, Prof. Dr. G. Bergmann

28.4.1980 Diplom-Hauptprüfung in Chemie

Juli 1980 Beginn der Doktorarbeit

D. GRÄBNER

Dissertations- u. Offsetdruckerei

Gotenstraße 3

8602 Altendorf bei Bamberg

Telefon 09545 / 8791

